

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202390508** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.04.11**

(22) Дата подачи заявки  
**2021.08.04**

(51) Int. Cl. *A61K 31/435* (2006.01)  
*A61K 31/439* (2006.01)  
*A61K 31/53* (2006.01)  
*C07D 253/065* (2006.01)  
*C07D 253/07* (2006.01)  
*C07D 471/08* (2006.01)

---

(54) **КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ МОДУЛИРОВАНИЯ СПЛАЙСИНГА**

---

(31) **63/061,742**

(32) **2020.08.05**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/044528**

(87) **WO 2022/031838 2022.02.10**

(71) Заявитель:  
**СКАЙХОУК ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.  
(US)**

(72) Изобретатель:

**Луцио Майкл, Лукас Брайан, Ван  
Тяньшэн (US)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) В изобретении описаны соединения, представляющие собой низкомолекулярные модуляторы сплайсинга, которые модулируют сплайсинг мРНК, как, например, pre-mRNA, кодируемой генами, и способы применения соединений, представляющих собой низкомолекулярные модуляторы сплайсинга, для модулирования сплайсинга и лечения заболеваний и состояний.

**A1**

**202390508**

**202390508**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577516EA/055

### КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ МОДУЛИРОВАНИЯ СПЛАЙСИНГА

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] Данная заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 63/061742, поданной 5 августа 2020 года, раскрытия которой настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[02] Большинство генов, кодирующих белки в геноме человека, состоят из множества экзонов (кодирующие области), которые разделены интронами (некодирующие области). Экспрессия генов приводит к образованию единственного предшественника матричной РНК (pre-mRNA). Последовательности интронов последовательно удаляются из pre-mRNA способом, который называется сплайсинг, в результате которого образуется зрелая матричная РНК (мРНК). За счет включения различных комбинаций экзонов альтернативный сплайсинг приводит к появлению нескольких мРНК, кодирующих отдельные изоформы белка. Сплайсосома, внутриклеточный комплекс из нескольких белков и рибонуклеопротеинов, катализирует сплайсинг.

[03] Современные терапевтические подходы для направления и контроля экспрессии мРНК требуют таких способов как генная терапия, редактирование генома или широкий спектр технологий, в которых используются олигонуклеотиды (антисмысловые, RNAi и т. д.). Генная терапия и редактирование генома действуют до транскрипции мРНК, осуществляя свое воздействие на стадии кода ДНК и тем самым изменяя экспрессию мРНК. Олигонуклеотиды обеспечивают модулирование действия РНК посредством канонической гибридизации оснований. Привлекательность данного подхода заключается в разработке основного фармакофора на основе олигонуклеотида, который может быть определен простым способом с помощью известного спаривания оснований с последовательностью-мишенью субъекта. Каждый из таких терапевтических способов страдает от существенных технических, клинических и нормативных проблем. Некоторые ограничения олигонуклеотидов в качестве терапевтических средств (*например*, антисмысловая, RNAi) включают неблагоприятную фармакокинетику, отсутствие биологической доступности при пероральном приеме и отсутствие проникновения через гематоэнцефалический барьер, причем последнее препятствует доставке в головной или спинной мозг после парентерального введения лекарственного средства для лечения заболеваний (*например*, неврологических заболеваний, типов рака головного мозга). Кроме того, олигонуклеотиды не проникают эффективно в солидные опухоли без сложной системы доставки, такой как липидные наночастицы. Дополнительно, большинство олигонуклеотидов, проникнувших в клетки и ткани, остаются в нефункциональных компартментах (*например*, в эндосомах) и не получают доступа к цитозолу и/или ядру, где находится мишень.

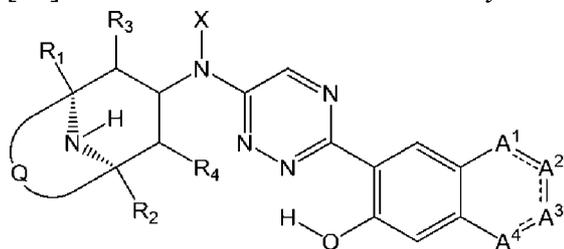
[04] Дополнительно, для отжига с мишенью средствам терапии на основе олигонуклеотидов необходимо наличие доступа к комплементарным парам оснований

мишени. Данный подход предполагает, что последовательности pre-mRNA существуют в клетке в виде линейной нити РНК. Однако, pre-mRNA редко является линейной; она обладает сложной вторичной и третичной структурой. Кроме того, цис-действующие элементы (*например*, элементы, связывающие белки) и транс-действующие факторы (*например*, компоненты комплекса сплайсинга) могут создавать дополнительную двумерную и трехмерную сложность (*например*, путем связывания с pre-mRNA). Такие особенности могут ограничивать активность и эффективность видов терапии на основе олигонуклеотидов.

### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[05] Новые низкомолекулярные модуляторы сплайсинга (SMSM), описанные в данном документе, не страдают ни от указанных выше ограничений, ни от структурных и стерических препятствий, которые сильно ограничивают виды терапии на основе олигонуклеотидов (*например*, путем блокирования гибридизации с pre-mRNA-мишенями). Малые молекулы сыграли важную роль в раскрытии механизмов, способов регуляции и функций множества клеточных процессов, включая репликацию ДНК, транскрипцию и трансляцию. Хотя в нескольких недавних отчетах описывались процедуры скрининга низкомолекулярных эффекторов сплайсинга, было идентифицировано лишь небольшое количество конститутивных или альтернативных модуляторов сплайсинга, и множество из низкомолекулярных ингибиторов характеризуются недостатком специфичности, селективности, эффективности, проявляют токсичности или недоступны при пероральном приеме. Обеспечение целенаправленного воздействия на транскриптом РНК с помощью низкомолекулярных модуляторов представляет собой неиспользованный терапевтический подход к лечению различных РНК-опосредованных заболеваний. Соответственно, остается необходимость в разработке низкомолекулярных модуляторов РНК, применимых в качестве терапевтических средств. В данной области техники существует необходимость в новых модуляторах сплайсинга или зависимых от сплайсинга процессов. В данном документе предусмотрены низкомолекулярные модуляторы сплайсинга и их варианты применения, которые удовлетворяют эту потребность.

[06] В одном аспекте в данном документе описано соединение формулы (I),



Формула (I),

где Q представляет собой замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>алкилен или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>гетероалкилен; X представляет собой водород, CH<sub>3</sub> или замещенный или незамещенный C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>циклоалкил; каждый из R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляет собой водород, галоген или CH<sub>3</sub>; каждый из R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub> независимо представляет

собой водород или галоген; каждый из  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$  и  $A^4$  независимо представляет собой N, -NR<sup>Y1</sup>-, -O-, -S- или CR<sup>A1</sup>; каждый  $\overline{\text{---}}$  независимо представляет собой одинарную или двойную связь; каждый R<sup>A1</sup> независимо представляет собой водород, галоген, =O или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил; и каждый R<sup>Y1</sup> независимо представляет собой водород или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил; или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтически приемлемый сольват.

[07] Также в данном документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтически приемлемый сольват и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель.

[08] Также в данном документе предусмотрены способы модулированию сплайсинга, включающие приведение в контакт соединения, раскрытого в данном документе, с клетками, где соединение модулирует сплайсинг в последовательности сайта сплайсинга pre-mRNA, которая кодирует мРНК, где мРНК кодирует целевой белок или функциональную РНК.

[09] Также в данном документе предусмотрены способы лечения заболевания или состояния, включающие введение соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтически приемлемого сольвата субъекту, нуждающемуся в этом.

[010] Также в данном документе предусмотрены варианты применения соединения, раскрытого в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтически приемлемого сольвата в изготовлении лекарственного препарата для лечения состояния или заболевания.

### **ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ**

[011] Все публикации, патенты и заявки на патенты, упоминаемые в данном описании, включены в данный документ посредством ссылки в такой же степени, как если бы было указано, что каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент конкретно и отдельно включены посредством ссылки.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

[012] Изложены определенные конкретные подробности данного описания с целью обеспечения полного понимания различных вариантов осуществления. Однако специалисту в данной области техники будет понятно, что настоящее изобретение можно осуществлять на практике без таких подробностей. В других случаях широко известные структуры не показаны или не описаны подробно для избежания излишнего усложнения описаний вариантов осуществления.

[013] Если не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют такое же значение, которое обычно понимает специалист средней квалификации в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя в практическом осуществлении или испытании настоящего изобретения можно применять

способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, подходящие способы и материалы описаны ниже.

### Определения

[014] Термины «соединение(соединения) по данному изобретению», «соединение(соединения) по настоящему изобретению», «низкомолекулярный (низкомолекулярные) стерический(стерические) модулятор(модуляторы)», «низкомолекулярный(низкомолекулярные) модулятор(модуляторы) сплайсинга», «стерический(стерические) модулятор(модуляторы)», «модулятор(модуляторы) сплайсинга», «соединение(соединения), которое(которые) модифицирует (модифицируют) сплайсинг» и «соединение(соединения) модифицирующее (модифицирующие) сплайсинг», «SMSM» или «малая молекула, которая связывает РНК-мишень», используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединениям, раскрытым в данном документе, и их стереоизомерам, таутомерам, сольватам и солям (*например*, фармацевтически приемлемым солям). Термины «соединение(соединения) по данному изобретению», «соединение(соединения) по настоящему изобретению», «низкомолекулярный(низкомолекулярные) стерический(стерические) модулятор(модуляторы)», «низкомолекулярный (низкомолекулярные) модулятор(модуляторы) сплайсинга» «стерический (стерические) модулятор(модуляторы)», «модулятор(модуляторы) сплайсинга», «соединение(соединения), которое(которые) модифицирует(модифицируют) сплайсинг» и «соединение(соединения), модифицирующее(модифицирующие) сплайсинг», «SMSM» или «малая молекула, которая связывает РНК-мишень» обозначают низкомолекулярное соединение, которое связывается с компонентом клетки (*например*, ДНК, РНК, pre-mRNA, белком, RNP, snRNA, углеводами, липидами, кофакторами, питательными веществами и/или метаболитами) и обеспечивает модулирование сплайсинга полинуклеотида-мишени, например pre-mRNA. Например, SMSM могут связываться непосредственно или опосредованно с полинуклеотидом-мишенью, например РНК (например, pre-mRNA), с мутировавшим, немутировавшим, выпетливающим и/или аберрантным сплайс-сайтом, что приводит к модулированию сплайсинга полинуклеотида-мишени. Например, SMSM может связываться непосредственно или опосредованно с белком, например белком сплайсосомы или рибонуклеарным белком, что приводит к стерическому модулированию белка и модулированию сплайсинга РНК-мишени. Например, SMSM может связываться непосредственно или опосредованно с компонентом сплайсосомы, например белком сплайсосомы или snRNA, что приводит к стерическому модулированию белка сплайсосомы или snRNA и модулированию сплайсинга полинуклеотида-мишени. Эти термины конкретно исключают соединения, состоящие из олигонуклеотидов. Эти термины включают низкомолекулярные соединения, которые могут связываться с одним или более элементами вторичной или третичной структуры РНК-мишени. Такие сайты включают РНК-триплексы, 3WJ, 4WJ, Y-образные структуры с параллельными нитями, шпильки, выпетливания, псевдоузлы, внутренние петли и другие структурные мотивы РНК более

высокого порядка.

[015] Термин «РНК» (рибонуклеиновая кислота), используемый в данном документе, означает встречающиеся в природе или синтетические олигорибонуклеотиды, которые не зависимо от источника (например, РНК может продуцироваться в организме человека, животного, растения, вирусом или бактерией, или может быть синтетической по происхождению), биологического контекста (например, РНК может находится в ядре, циркулировать в крови, присутствовать *in vitro*, в лизате клеток, или в выделенной или чистой форме) или физической формы (например, РНК может быть в одно-, двух- или трехцепочечной форме (включая РНК-ДНК гибриды) могут включать эпигенетические модификации, нативные посттранскрипционные модификации, искусственные модификации (например, полученные путем химической модификации или модификации *in vitro*) или другие модификации, могут быть связаны с, например, ионами металлов, малыми молекулами, белками, такими как шапероны или кофакторы, или могут присутствовать в денатурированном, частично денатурированном или свернутом состоянии, включая любую нативную или неестественную вторичную или третичную структуру, такую как квадруплексы, шпильки, триплексы, структуры из трех олигонуклеотидных дуплексов (3WJ), структуры из четырех олигонуклеотидных дуплексов (4WJ), Y-подобные структуры с параллельными нитями, шпильки, выпетливания, псевдоузлы и внутренние петли, и т. д., и любые переходные формы или структуры, принимаемые РНК). В некоторых вариантах осуществления длина РНК составляет 20, 22, 50, 75 или 100 или больше нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина РНК составляет 250 или больше нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина РНК составляет 350, 450, 500, 600, 750 или 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 7500, 10000, 15000, 25000, 50000 или больше нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина РНК составляет от 250 до 1000 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой пре-РНК, пре-miRNA или претранскрипт. В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой некодирующую РНК (ncRNA), матричную РНК (мРНК), микро-РНК (miRNA), рибозим, рибопереключател, lncRNA, lincRNA, snoRNA, snRNA, scaRNA, piRNA, ceRNA, псевдо-ген, РНК вируса, РНК гриба, РНК паразита или РНК бактерии.

[016] «Стерическое изменение», «стерическая модификация» или «стерическое модулирование» в данном документе относятся к изменениям пространственной ориентации химических фрагментов относительно друг друга. Специалисту средней квалификации в данной области техники будет понятно, что механизмы стерического воздействия включают без ограничения создание стерического препятствия, обеспечение стерической защиты, стерическое притяжение, перекрещивание цепей, стерическое отталкивание, стерическое подавление отклика и стерическое подавление протонирования.

[017] Любая вакантная валентность, показанная в атоме углерода, кислорода, серы или азота в структурах в данном документе указывает на присутствии водорода, если не указано иное.

[018] Определения, описанные в данном документе, применяются независимо от того, появляются рассматриваемые термины отдельно или в комбинации. Предполагается, что определения, описанные в данном документе, могут быть соединены с образованием подходящих с точки зрения химии комбинаций, таких как, например, «гетероциклоалкиларил», «галогеналкилгетероарил», «арилалкилгетероциклоалкил» или «алкоксиалкил». Последний член комбинации является радикалом, который связывается с остальной частью молекулы. Другие члены комбинации присоединены к связывающему радикалу в обратном порядке относительно буквальной последовательности, например, комбинация арилалкилгетероциклоалкил относится к гетероциклоалкильному радикалу, который замещен алкилом, который замещен арилом.

[019] При указании количества заместителей термин «один или более» относится к диапазону от одного заместителя до наибольшего возможного количества замещений, т. е. от замены одного атома водорода до замены всех атомов водорода заместителями.

[020] Термин «заместитель» обозначает атом или группу атомов, заменяющих атом водорода в исходной молекуле.

[021] Термин «замещенный» обозначает, что указанная группа несет один или более заместителей. В случае, если какая-либо группа может нести несколько заместителей и приведен ряд разных возможных заместителей, заместители выбраны независимо и не обязательно являются одинаковыми. Термин «незамещенный» означает, что указанная группа не несет заместителей. Термин «необязательно замещенный» означает, что указанная группа является незамещенной или замещенной одним или более заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из возможных заместителей.

[022] По ходу изложения описания применяют следующие сокращения: уксусная кислота (AcOH); этилацетат (EtOAc); бутиловый спирт (n-BuOH); 1,2-дихлорэтан (DCE); дихлорметан (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DCM); диизопропилэтиламин (Diipea); диметилформамид (DMF); хлорид водорода (HCl); метанол (MeOH); метоксиметилбромид (MOMBr); N-метил-2-пирролидон (NMP); метилиодид (MeI); n-пропанол (n-PrOH); p-метоксибензил (PMB); триэтиламин (Et<sub>3</sub>N); [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II); (Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>); этантиолат натрия (EtSNa); ацетат натрия (NaOAc); гидрид натрия (NaH); гидроксид натрия (NaOH); тетрагидропиран (THP); тетрагидрофуран (THF).

[023] Используемый в данном документе C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub> включает C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>... C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub>. Только в качестве примера группа, обозначенная «C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>» указывает на то, что в фрагменте присутствует от одного до четырех атомов углерода, т. е. указывает группы, содержащие 1 атом углерода, 2 атома углерода, 3 атома углерода или 4 атома углерода. Таким образом, только в качестве примера «C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкил» указывает на то, что в алкильной группе присутствует от одного до четырех атомов углерода, т. е. алкильная группа выбрана из метила, этила, пропила, изопропила, n-бутила, изобутила, втор-бутила и трет-бутила.

[024] Термин «оксо» относится к заместителю =O.

[025] Термин «тиоксо» относится к заместителю =S.

[026] Термины «галогено», «галоген» и «галогенид» в данном документе

применяются взаимозаменяемо и обозначают фтор, хлор, бром или йод.

[027] Термин «алкил» относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, который содержит от одного до двадцати атомов углерода и который присоединен к остальной части молекулы одинарной связью. Алкил, содержащий не более 10 атомов углерода называют  $C_1$ - $C_{10}$ алкилом, подобным образом, например, алкил, содержащий не более 6 атомов углерода, представляет собой  $C_1$ - $C_6$ алкил. Алкилы (и другие фрагменты, определенные в данном документе), содержащие другие количества атомов углерода, представлены аналогично. Алкильные группы включают без ограничения  $C_1$ - $C_{10}$ алкил,  $C_1$ - $C_9$ алкил,  $C_1$ - $C_8$ алкил,  $C_1$ - $C_7$ алкил,  $C_1$ - $C_6$ алкил,  $C_1$ - $C_5$ алкил,  $C_1$ - $C_4$ алкил,  $C_1$ - $C_3$ алкил,  $C_1$ - $C_2$ алкил,  $C_2$ - $C_8$ алкил,  $C_3$ - $C_8$ алкил и  $C_4$ - $C_8$ алкил. Иллюстративные алкильные группы включают без ограничения метил, этил, *n*-пропил, 1-метилэтил (изопропил), *n*-бутил, изобутил, *втор*-бутил, *n*-пентил, 1,1-диметилэтил (*трет*-бутил), 3-метилгексил, 2-метилгексил, 1-этилпропил и т. п. В некоторых вариантах осуществления алкил представляет собой метил или этил. В некоторых вариантах осуществления алкил представляет собой  $-CH(CH_3)_2$  или  $-C(CH_3)_3$ . Если иное не указано конкретно в описании, алкильная группа может быть необязательно замещенной. Во избежание неоднозначности толкования, термин «алкил» не охватывает алкенильные или алкинильные группы. «Алкилен» или «алкиленовая цепь» относится к прямой или разветвленной двухвалентной углеводородной цепи, соединяющей остальную часть молекулы с группой-радикалом. В некоторых вариантах осуществления алкилен представляет собой  $-CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2-$  или  $-CH_2CH_2CH_2-$ . В некоторых вариантах осуществления алкилен представляет собой  $-CH_2-$ . В некоторых вариантах осуществления алкилен представляет собой  $-CH_2CH_2-$ . В некоторых вариантах осуществления алкилен представляет собой  $-CH_2CH_2CH_2-$ . Если иное не указано конкретно в описании, алкиленовая группа может быть необязательно замещенной. Во избежание неоднозначности толкования, термин «алкилен» не охватывает алкениленовую или алкиниленовую группы.

[028] Термин «алкенил» относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, содержащему от одного до двадцати атомов углерода, в котором присутствует по меньшей мере одна углерод-углеродная двойная связь. В одном варианте осуществления алкенильная группа характеризуется формулой  $-C(R)=CR^a$ , где  $R^a$  относится к остальным частям алкенильной группы, которые могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления  $R^a$  представляет собой H или алкил. В некоторых вариантах осуществления алкенил выбран из этенила (т. е. винила), пропенила (т. е. аллила), бутенила, пентенила, пентадиенила и т. п. Неограничивающие примеры алкенильной группы включают  $-CH=CH_2$ ,  $-C(CH_3)=CH_2$ ,  $-CH=CHCH_3$ ,  $-C(CH_3)=CHCH_3$  и  $-CH_2CH=CH_2$ . Термин «алкенилен» относится к двухвалентной алкенильной группе.

[029] Термин «алкинил» относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, содержащему от одного до двадцати атомов углерода, в котором присутствует по меньшей мере одна углерод-углеродная тройная связь. В одном варианте осуществления алкенильная группа характеризуется формулой  $-C\equiv C-R^a$ , где  $R^a$  относится к

остальным частям алкинильной группы. В некоторых вариантах осуществления  $R^a$  представляет собой H или алкил. В некоторых вариантах осуществления алкинил выбран из этинила, пропинала, бутинила, пентинила, гексинила и т. п. Неограничивающие примеры алкинильной группы включают  $-C\equiv CH$ ,  $-C\equiv CCH_3$ ,  $-C\equiv CCH_2CH_3$ ,  $-CH_2C\equiv CH$ . Термин «алкинилен» относится к двухвалентной алкинильной группе.

[030] Термин «алкокси» относится к радикалу формулы  $-OR^a$ , где  $R^a$  представляет собой алкильный радикал, как определено. Если иное не указано конкретно в описании, алкоксигруппа может быть необязательно замещенной. Иллюстративные алкоксигруппы включают без ограничения метокси, этокси, пропокси, бутокси, пентокси. В некоторых вариантах осуществления алкокси представляет собой метокси. В некоторых вариантах осуществления алкокси представляет собой этокси.

[031] Термин «ароматический» относится к планарному кольцу, содержащему делокализованную  $\pi$ -электронную систему, содержащую  $4n+2$   $\pi$  электронов, где  $n$  представляет собой целое число. Ароматические соединения могут быть необязательно замещенными. Термин «ароматический» включает как арильные группы (например, фенил, нафталинил), так и гетероарильные группы (например, пиридинил, хиолинил).

[032] Термин «арил» относится к ароматическому кольцу, где каждый из атомов, образующих кольцо, представляет собой атом углерода. Арильные группы могут быть необязательно замещенными. Примеры арильных групп включают без ограничения фенил и нафтил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил. В зависимости от структуры арильная группа может представлять собой одновалентный радикал или двухвалентный радикал (т. е. ариленовую группу). Если иное не указано конкретно в описании, термин «арил» или префикс «ар-» (как, например, в «аралкиле») предусматривают включение арильных радикалов, которые являются необязательно замещенными. В некоторых вариантах осуществления арильная группа содержит частично восстановленную циклоалкильную группу, определенную в данном документе (например, 1,2-дигидронафталин). В некоторых вариантах осуществления арильная группа содержит полностью восстановленную циклоалкильную группу, определенную в данном документе (например, 1,2,3,4-тетрагидронафталин). Если арил содержит циклоалкильную группу, арил связан с остальной частью молекулы посредством ароматического атома углерода в кольце.

[033] Термин «галогеналкил» обозначает алкильную группу, где по меньшей мере один из атомов водорода алкильной группы был заменен одинаковыми или разными атомами галогена, в частности атомами фтора. Примеры галогеналкила включают монофтор-, дифтор-или трифторметил, -этил или -пропил, например 3,3,3-трифторпропил, 2-фторэтил, 2,2,2-трифторэтил, фторметил или трифторметил. Термин «пергалогеналкил» обозначает алкильную группу, где все атомы водорода алкильной группы были заменены одинаковыми или разными атомами галогена.

[034] Термин «бициклическая кольцевая система» обозначает два кольца, которые конденсированы друг с другом посредством общей одинарной или двойной связи

(аннелированная бициклическая кольцевая система), посредством последовательности из трех или больше общих атомов (мостиковая бициклическая кольцевая система) или посредством общего одного атома (бициклическая спиро-кольцевая система). Бициклические кольцевые системы могут быть насыщенными, частично ненасыщенными, ненасыщенными или ароматическими. Бициклические кольцевые системы могут содержать гетероатомы, выбранные из N, O и S.

[035] Термины «карбоциклический» или «карбоцикл» относятся к кольцу или кольцевой системе, где все атомы, образующие остов кольца, представляют собой атомы углерода. Таким образом термин отграничивает карбоциклические соединения от «гетероциклических» колец или «гетероциклов», в которых остов кольца содержит по меньшей мере один атом, который отличается от углерода. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно из двух колец бициклического карбоцикла является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления оба кольца бициклического карбоцикла являются ароматическими. Карбоцикл включает циклоалкил и арил.

[036] Термин «циклоалкил» относится к моноциклическому или полициклическому неароматическому радикалу, где каждый из атомов, образующих кольцо (т. е. атомов каркаса), представляет собой атом углерода. В некоторых вариантах осуществления циклоалкилы являются насыщенными или частично ненасыщенными. В некоторых вариантах осуществления циклоалкилы представляют собой спироциклические или мостиковые соединения. В некоторых вариантах осуществления циклоалкилы являются конденсированными с ароматическим кольцом (в этом случае циклоалкил присоединен посредством атома углерода в неароматическом кольце). Циклоалкильные группы включают группы, содержащие от 3 до 10 атомов в кольце. Иллюстративные циклоалкилы включают без ограничения циклоалкилы, содержащие от трех до десяти атомов углерода, от трех до восьми атомов углерода, от трех до шести атомов углерода или от трех до пяти атомов углерода. Моноциклические циклоалкильные радикалы включают, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил. В некоторых вариантах осуществления моноциклический циклоалкил представляет собой циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. В некоторых вариантах осуществления моноциклический циклоалкил представляет собой циклопентенил или циклогексенил. В некоторых вариантах осуществления моноциклический циклоалкил представляет собой циклопентенил. Полициклические радикалы включают, например, адамантил, 1,2-дигидронафталинил, 1,4-дигидронафталинил, тетралинил, декалинил, 3,4-дигидронафталинил-1(2H)-он, спиро[2,2]пентил, норборнил и бицикло[1.1.1]пентил. Если иное не указано конкретно в описании, циклоалкильная группа может быть необязательно замещенной.

[037] Термин «мостиковый» относится к любой кольцевой структуре с двумя или больше кольцами, которая содержит мостик, соединяющий два атома в основе мостика. Атомы в основе мостика определяются как атомы, которые являются частью каркасной конструкции молекулы и которые соединены с тремя или более другими атомами каркаса.

В некоторых вариантах осуществления атомы в основе мостика представляют собой С, N или Р. В некоторых вариантах осуществления мостик представляет собой один атом или цепь из атомов, которые соединяют два атома в основе мостика. В некоторых вариантах осуществления мостик представляет собой валентную связь, которая соединяет два атома в основе мостика. В некоторых вариантах осуществления мостиковая кольцевая система представляет собой циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления мостиковая кольцевая система представляет собой гетероциклоалкил.

[038] Термин «фторалкил» относится к алкилу, в котором один или более атомов водорода заменены на атом фтора. В одном аспекте фторалкил представляет собой  $C_1$ - $C_6$ фторалкил. В некоторых вариантах осуществления фторалкил выбран из трифторметила, дифторметила, фторметила, 2,2,2-трифторэтила, 1-фторметил-2-фторэтила и т. п.

[039] Термин «гетероалкил» относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, в котором один или более атомов каркаса углеводородной цепи выбраны из атома, отличного от углерода, *например*, кислорода, азота (*например*, -NH-, -N(алкил)- или -N(арил)-), серы (*например*, -S-, -S(=O)- или -S(=O)<sub>2</sub>-) или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления гетероалкил присоединен к остальной части молекулы при атоме углерода гетероалкила. В некоторых вариантах осуществления гетероалкил присоединен к остальной части молекулы при гетероатоме гетероалкила. В некоторых вариантах осуществления гетероалкил представляет собой  $C_1$ - $C_6$ гетероалкил. Иллюстративные гетероалкильные группы включают без ограничения -OCH<sub>2</sub>OMe, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe или -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

[040] Термин «гетероалкилен» или «гетероалкиленовая цепь» относится к углеводороду с прямой или разветвленной двухвалентной цепью, связывающей остальную часть молекулы с радикальной группой в которой один или более атомов каркаса углеводородной цепи выбраны из атома, отличного от углерода, *например* кислорода, азота (*например*, -NH-, -N(алкил)- или -N(арил)-), серы (*например*, -S-, -S(=O)- или -S(=O)<sub>2</sub>-) или их комбинации. Если иное не указано конкретно в описании, гетероалкиленовая группа может быть необязательно замещенной. Иллюстративные гетероалкиленовые группы включают без ограничения -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- или -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-.

[041] Термин «гетероциклоалкил» относится к циклоалкильной группе, которая включает по меньшей мере один гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы. Если иное не указано конкретно в описании, гетероциклоалкильный радикал может представлять собой моноциклическую или бициклическую кольцевую систему, которая может включать конденсированные (если конденсирован с арильным или гетероарильным кольцом, гетероциклоалкил присоединен посредством атома в неароматическом кольце) или мостиковые кольцевые системы. Атомы азота, углерода или серы в гетероциклильном радикале могут быть необязательно окисленными. Атом азота может быть необязательно кватернизированным. Гетероциклоалкильный радикал является частично или полностью насыщенным. Примеры гетероциклоалкильных радикалов включают без ограничения,

диоксоланил, тиенил[1,3]дитианил, тетрагидрохинолил, тетрагидроизохинолил, декагидрохинолил, декагидроизохинолил, имидазолинил, имидазолидинил, изотиазолидинил, изоксазолидинил, морфолинил, октагидроиндолил, октагидроизоиндолил, 2-оксопиперазинил, 2-оксопиперидинил, 2-оксопирролидинил, оксазолидинил, пиперидинил, пиперазинил, 4-пиперидонил, пирролидинил, пиразолидинил, хинуклидинил, тиазолидинил, тетрагидрофурил, тритианил, тетрагидропиранил, тиоморфолинил, тиаморфолинил, 1-оксотiomорфолинил, 1,1-диоксотiomорфолинил. Термин гетероциклоалкил также включает все кольцевые формы углеводов, включая без ограничения моносахариды, дисахариды и олигосахариды. Если не указано иное, гетероциклоалкилы содержат от 2 до 12 атомов углерода в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце и 1 или 2 атома N. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце и 3 или 4 атома N. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалкилы содержат от 2 до 12 атомов углерода, 0-2 атома N, 0-2 атома O, 0-2 атома P и 0-1 атом S в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалкилы содержат от 2 до 12 атомов углерода, 1-3 атомов N, 0-1 атомов O и 0-1 атомов S в кольце. Известно, что в случае ссылки на количество атомов углерода в гетероциклоалкиле, количество атомов углерода в гетероциклоалкиле не является таким же, как общее количество атомов (включающее гетероатомы), из которых состоит гетероциклоалкил (т. е. атомов каркаса гетероциклоалкильного кольца). Если иное не указано конкретно в описании, гетероциклоалкильная группа может быть необязательно замещенной.

[042] Термин «гетероцикл» или «гетероциклический» относится к гетероароматическим кольцам (также известным как гетероарилы) и гетероциклоалкильным кольцам (также известные как гетероалициклические группы), которые включают по меньшей мере один гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, где каждая гетероциклическая группа содержит от 3 до 12 атомов в своей кольцевой системе, и при условии, что ни одно из колец не содержит двух смежных атомов O или S. Неароматические гетероциклические группы (также известные как гетероциклоалкилы) включают кольца, содержащие от 3 до 12 атомов в своей кольцевой системе, и ароматические гетероциклические группы включают кольца содержащие от 5 до 12 атомов в своей кольцевой системе. Гетероциклические группы включают бензо-конденсированные кольцевые системы. Примерами неароматических гетероциклических групп являются пирролидинил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротииенил, оксазолидинонил, тетрагидропиранил, дигидропиранил, тетрагидротииопиранил, пиперидинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, азиридинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидинил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинил, 1,2,3,6-тетрагидропиперидинил, пирролин-2-ил, пирролин-3-ил, индолинил, 2H-пиранил, 4H-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил,

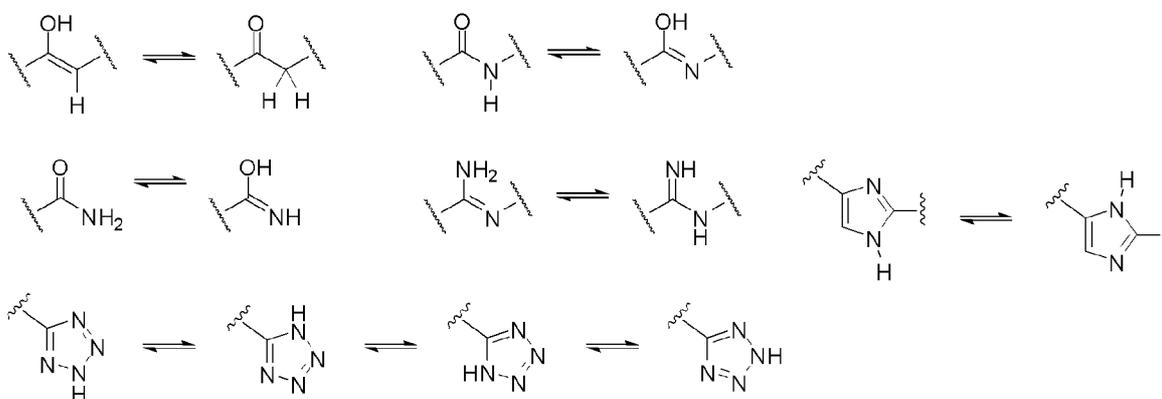
дигидропиранил, дигидротиенил, дигидрофуранил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3.1.0]гексанил, 3-азабицикло[4.1.0]гептанил, 3-Н-индолил, индолин-2-онил, изоиндолин-1-онил, изоиндолин-1,3-дионил, 3,4-дигидроизохинолин-1(2Н)-онил, 3,4-дигидрохинолин-2(1Н)-онил, изоиндолин-1,3-дитионил, бензо[d]оксазол-2(3Н)-онил, 1Н-бензо[d]имидазол-2(3Н)-онил, бензо[d]тиазол-2(3Н)-онил и хинолизинил. Примерами ароматических гетероциклических групп являются пиридинил, имидазолил, пиримидинил, пиразолил, триазолил, пиразинил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, оксазолил, изотиазолил, пирролил, хинолинил, изохинолинил, индолил, бензимидазолил, бензофуранил, циннолинил, индазолил, индолизинил, фталазинил, пиридазинил, триазинил, изоиндолил, птеридинил, пуринил, оксадиазолил, тиадиазолил, фуразанил, бензофуразанил, бензотиофенил, бензотиазолил, бензоксазолил, хиназолинил, хиноксалинил, нафтиридинил и фуропиридинил. Вышеуказанные группы являются либо *C*-присоединенными (или *C*-связанными), либо *N*-присоединенными, где это возможно. Например, группа, производная от пиррола, включает как пиррол-1-ил (*N*-присоединенный) так и пиррол-3-ил (*C*-присоединенный). Кроме того, группа, производная от имидазола, включает имидазол-1-ил или имидазол-3-ил (оба *N*-присоединенные) или имидазол-2-ил, имидазол-4-ил или имидазол-5-ил (все *C*-присоединенные). Гетероциклические группы включают бензо-конденсированные кольцевые системы. Неароматические гетероциклы необязательно замещены одним или двумя оксо(=O) фрагментами, такими как пирролидин-2-он. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно из двух колец бициклического гетероцикла является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления оба кольца бициклического гетероцикла являются ароматическими.

[043] Термин «гетероарил» относится к арильной группе, которая включает один или более гетероатомов в кольце, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления гетероарил является моноциклическим или бициклическим. Иллюстративные примеры моноциклических гетероариллов включают пиридинил, имидазолил, пиримидинил, пиразолил, триазолил, пиразинил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, оксазолил, изотиазолил, пирролил, пиридазинил, триазинил, оксадиазолил, тиадиазолил, фуразанил, индолизин, индол, бензофуран, бензотиофен, индазол, бензимидазол, пурин, хинолизин, хинолин, изохинолин, циннолин, фталазин, хиназолин, хиноксалин, 1,8-нафтиридин и птеридин. Иллюстративные примеры моноциклических гетероариллов включают пиридинил, имидазолил, пиримидинил, пиразолил, триазолил, пиразинил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, оксазолил, изотиазолил, пирролил, пиридазинил, триазинил, оксадиазолил, тиадиазолил и фуразанил. Иллюстративные примеры бициклических гетероариллов включают индолизин, индол, бензофуран, бензотиофен, индазол, бензимидазол, пурин, хинолизин, хинолин, изохинолин, циннолин, фталазин, хиназолин, хиноксалин, 1,8-нафтиридин и птеридин. В некоторых вариантах осуществления гетероарил представляет собой пиридинил, пиразинил, пиримидинил, тиазолил, тиенил, тиадиазолил или фурил. В некоторых вариантах осуществления гетероарил содержит 0-6 атомов N в кольце. В некоторых

вариантах осуществления гетероарил содержит 1-4 атома N в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероарил содержит 4-6 атомов N в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероарил содержит 0-4 атома N, 0-1 атом O, 0-1 атом P и 0-1 атом S в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероарил содержит 1-4 атома N, 0-1 атом O и 0-1 атом S в кольце. В некоторых вариантах осуществления гетероарил представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub>гетероарил. В некоторых вариантах осуществления моноциклический гетероарил представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>гетероарил. В некоторых вариантах осуществления моноциклический гетероарил представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа содержит частично восстановленную циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу, определенную в данном документе (например, 7,8-дигидрохиолин). В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа содержит полностью восстановленную циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу, определенную в данном документе (например, 5,6,7,8-тетрагидрохиолин). Если гетероарил содержит циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу, гетероарил связан с остальной частью молекулы посредством атома углерода или гетероатома в гетероароматическом кольце.

[044] Термин «фрагмент» относится к конкретной части или функциональной группе молекулы. Химические фрагменты часто представляют собой распознаваемые химические структуры, встроенные в молекулу или присоединенные к ней.

[045] Термин «таутомер» относится к сдвигу протона от одного атома молекулы к другому атому той же молекулы. Соединения, представленные в данном документе, могут существовать в виде таутомеров. Таутомеры представляют собой соединения, взаимопревращающиеся за счет миграции атома водорода, сопровождающейся переключением одинарной связи и смежной двойной связи. В тех вариантах расположения связей, где возможна таутомеризация, будет существовать химическое равновесие таутомеров. Рассматриваются все таутомерные формы соединений, раскрытых в данном документе. Точное соотношение таутомеров зависит от нескольких факторов, включая температуру, растворитель и pH. Некоторые примеры таутомерных взаимопревращений включают:



[046] Термины «вводит», «введение» и т. п., используемые в данном документе,

относятся к способам, которые могут применяться для обеспечения доставки соединений или композиций к необходимому месту биологического действия. Такие способы включают без ограничения пути перорального применения (p. o.), пути интрадуоденального применения (i. d.), парентеральную инъекцию (включая внутривенную (i. v.), подкожную (s. c.), внутрибрюшинную (i. p.), внутримышечную (i. m.), внутрисосудистую или инфузию (inf.)), местное (top.) и ректальное (p. r.) введение. Специалисты в данной области техники знакомы с методиками введения, которые могут применяться в отношении соединений и способов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления соединения и композиции, описанные в данном документе, вводятся перорально.

[047] Подразумевается, что термины «одновременное введение» или подобные, используемые в данном документе, охватывают введение выбранных терапевтических средств одному пациенту, и предназначены для включения схем лечения, при которых средства вводят одним и тем же или разными путями введения или в одно и то же или разное время.

[048] Термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество», используемые в данном документе, относятся к достаточному количеству вводимого средства или соединения, которое обеспечит некоторую степень облегчения одного или более симптомов заболевания или состояния, в отношении которых осуществляют лечение; например, уменьшение и/или облегчение одного или более признаков, симптомов или причин заболевания или любое другое необходимое изменение биологической системы. Например, «эффективное количество» для вариантов терапевтического применения может представлять собой количество средства, которое обеспечивает клинически значительное уменьшение одного или более симптомов заболевания. Подходящее «эффективное» количество может быть определено с применением методик, таких как исследование с повышением дозы, в отдельных случаях.

[049] Термины «усиливать» или «усиление», используемые в данном документе, означают увеличивать или продлевать необходимый эффект в отношении либо количества, либо активности, либо продолжительности. Например, в отношении усиления сплайсинга мишени, термин «усиление» может относиться к способности увеличивать или продлевать сплайсинг мишени в отношении либо количества, либо активности, либо продолжительности.

[050] Термины «субъект» или «пациент» охватывают млекопитающих. Примеры млекопитающих включают без ограничения любого члена класса млекопитающих: людей, приматов, отличных от человека, таких как шимпанзе, и других видов человекообразных обезьян и обезьян; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свинья; домашних животных, таких как кролики, собаки и коты; лабораторных животных, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки и т. п. В одном аспекте млекопитающее представляет собой человека. Термин «животное», используемый в данном документе, включает людей и животных, отличных от человека. В одном варианте осуществления «животное, отличное от человека» представляет собой

млекопитающее, например грызуна, такого как крыса или мышь. В одном варианте осуществления животное, отличное от человека, представляет собой мышь.

[051] Термины «фармацевтическая композиция» и «фармацевтический состав» (или «состав») используются взаимозаменяемо и обозначают смесь или раствор, содержащий терапевтически эффективное количество активного фармацевтического ингредиента вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, подлежащий введению субъекту, *например* человеку, нуждающемуся в этом.

[052] Термин «фармацевтическая комбинация», используемый в данном документе, означает продукт, полученный в результате смешивания или объединения более чем одного активного ингредиента и включающий как фиксированные, так и нефиксированные комбинации активных ингредиентов. Термин «фиксированная комбинация» означает, что активные ингредиенты, *например* соединение, описанное в данном документе, и совместно применяемое средство вводят пациенту одновременно в виде одного объекта или дозировки. Термин «нефиксированная комбинация» означает, что активные ингредиенты, *например* соединение, описанное в данном документе, и совместно применяемое средство, вводят пациенту в виде отдельных объектов либо одновременно, либо параллельно, либо последовательно без конкретных ограничений в отношении промежутков времени между отдельными введениями, где такое введение обеспечивает эффективные уровни двух соединений в организме пациента. Последнее также относится к коктейльной терапии, *например* введению трех или больше активных ингредиентов.

[053] Термин «фармацевтически приемлемый» обозначает характеристику материала, который является применимым при получении фармацевтической композиции, которая в целом является безопасной, нетоксичной, не является биологически или иным образом нежелательной и приемлема как для ветеринарного, так и для фармацевтического применения у человека. «Фармацевтически приемлемый» может относиться к материалу, такому как носитель или разбавитель, который не нейтрализует биологическую активность или свойства соединения, и является относительно нетоксичным, т. е. материал можно вводить индивидууму, не вызывая нежелательных биологических эффектов или не обуславливая вредного воздействия при взаимодействии с любым из компонентов композиции, в которой он содержится.

[054] Термины «фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество», «фармацевтически приемлемый носитель» и «терапевтически инертное вспомогательное вещество» могут использоваться взаимозаменяемо и обозначают любой фармацевтически приемлемый ингредиент в фармацевтической композиции, не обладающий терапевтической активностью и нетоксичный для субъекта, получающего лечение, такой как разрыхлители, связующие, наполнители, растворители, буферы, средства, регулирующие тоничность, стабилизаторы, антиоксиданты, поверхностно-активные вещества, носители, разбавители, вспомогательные вещества, консерванты или смазывающие вещества, используемые при составлении фармацевтических продуктов.

[055] Термин «фармацевтически приемлемые соли» обозначает соли, которые не

являются биологически или иным образом нежелательными. Фармацевтически приемлемые соли включают как соли присоединения кислот, так и соли присоединения оснований. «Фармацевтически приемлемая соль» может относиться к составу соединения, который не вызывает значительного раздражения в организме, в который его вводят, и/или не нейтрализует биологическую активность и свойства соединения. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли получают путем осуществления реакции соединения, представляющего собой SMSM, любой из формул (I) - (Io) с кислотой. Фармацевтически приемлемые соли также получают путем осуществления реакции соединения любой из формул (I) - (Io) с основанием с образованием соли.

[056] Термин «нуклеиновая кислота», используемый в данном документе, в общем относится к одному или более нуклеиновым основаниям, нуклеозидам или нуклеотидам, и термин включает полимеры нуклеиновых оснований, полинуклеозиды и полинуклеотиды.

[057] Используемый в данном документе термин «соединение с малой молекулярной массой» может использоваться взаимозаменяемо с терминами «малая молекула» или «малая органическая молекула». Малые молекулы относятся к соединениям, отличным от пептидов или олигонуклеотидов; и как правило характеризуются значениями молекулярной массы, составляющими менее приблизительно 2000 дальтон, *например* менее приблизительно 900 дальтон.

[058] Рибонуклеопротеин (RNP) относится к нуклеопротеину, который содержит РНК. RNP может представлять собой комплекс рибонуклеиновой кислоты и РНК-связывающего белка. Такая комбинация может также называться РНК-белковым комплексом. Такие комплексы могут выполнять ряд биологических функций включая без ограничения репликацию ДНК, экспрессию генов, метаболизм РНК и сплайсинг pre-mRNA. Примеры RNP включают рибосому, фермент теломеразу, цитоплазматические рибонуклеопротеины «vault», РНКазу Р, гетерогенные ядерные RNP (hnRNP) и малые ядерные RNP (snRNP).

[059] Растущие РНК-транскрипты из генов, кодирующих белок, и промежуточные соединения обработки мРНК, совместно называемые pre-mRNA, обычно связываются белками в ядрах эукариотических клеток. С момента появления растущих транскриптов из РНК полимеразы (*например*, РНК-полимеразы II) до транспортировки зрелых мРНК в цитоплазму, молекулы РНК ассоциированы с многочисленной группой компонентов комплекса сплайсинга (*например*, ядерными белками и snRNA). Такие белки могут быть компонентами hnRNP, которые могут содержать гетерогенную ядерную РНК (hnРНК) (*например*, pre-mRNA и комплексы ядерной РНК) различных размеров.

[060] Компоненты комплекса сплайсинга функционируют при сплайсинге и/или регуляции сплайсинга. Компоненты комплекса сплайсинга могут включать без ограничения рибонуклеопротеины (RNP), белки сплайсинга, малые ядерные РНК (snRNA), малые ядерные рибонуклеопротеины (snRNP) и гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины (hnRNP). Компоненты комплекса сплайсинга включают без ограничения те, которые могут быть необходимы для сплайсинга, такого как

конститутивный сплайсинг, альтернативный сплайсинг, регулируемый сплайсинг и сплайсинг конкретных первичных транскриптов или групп первичных транскриптов. Группа родственных белков, белков, богатых серином и аргинином (SR-белки), может функционировать при конститутивном сплайсинге pre-mRNA и может также регулировать выбор сайта альтернативного сплайсинга в зависимости от концентрации. SR-белки как правило характеризуются модульной структурой, которая предусматривает наличие одного или двух фрагментов, распознающих РНК (RRM), и С-концевых остатков, богатых аргинином и серином (RS-домен). Антагонистическое воздействие на их активность в альтернативном сплайсинге могут оказывать члены семейства белков hnRNP A/B. Компоненты комплекса сплайсинга могут также включать белки, которые ассоциированы с одной или более snRNA. SR-белки у человека включают без ограничения SC35, SRp55, SRp40, SRm300, SFRS10, TASF1, TASF2, SF2/ASF, 9G8, SRp75, SRp30c, SRp20 и P54/SFRS11. Другие компоненты комплекса сплайсинга у человека, которые могут быть вовлечены в осуществление выбора сайта сплайсинга включают без ограничения вспомогательные факторы U2 snRNA (*например*, U2AF65, U2AF35), Ugp/U2AF1-RS2, SF1/BBP, CBP80, CBP 20, SF1 и PTB/hnRNP1. Белки hnRNP у людей включают без ограничения A1, A2/B1, L, M, K, U, F, H, г, R, I и C1/C2. Гены человека, кодирующие hnRNP, включают *HNRNPA0*, *HNRNPA1*, *HNRNPA1L1*, *HNRNPA1L2*, *HNRNPA3*, *HNRNPA2B1*, *HNRNPAB*, *HNRNPB1*, *HNRNPC*, *HNRNPCL1*, *HNRNPD*, *HNRPDL*, *HNRNPF*, *HNRNPH1*, *HNRNPH2*, *HNRNPH3*, *HNRNPK*, *HNRNPL*, *HNRPLL*, *HNRNPM*, *HNRNPR*, *HNRNPU*, *HNRNPUL1*, *HNRNPUL2*, *HNRNPUL3* и *FMRI*. Компоненты комплекса сплайсинга могут быть постоянно или временно ассоциированы с snRNP или с транскриптом.

[061] Термин «интрон» относится как к последовательности ДНК внутри гена, так и к соответствующей последовательности в не подвергнутом процессингу транскрипте РНК. В рамках пути процессинга РНК интроны могут быть удалены посредством сплайсинга РНК либо вскоре после транскрипции, либо одновременно с ней. Интроны обнаружены в генах большинства организмов и множества вирусов. Они могут находиться в широком диапазоне генов, включая те, которые обеспечивают образование белков, рибосомную РНК (рРНК) и транспортную РНК (тРНК).

[062] «Экзон» может быть любой частью гена, которая кодирует часть конечной зрелой РНК, продуцируемой этим геном после удаления интронов посредством сплайсинга РНК. Термин «экзон» относится как к последовательности ДНК внутри гена, так и к соответствующей последовательности в РНК-транскриптах.

[063] «Сплайсосома» может быть собрана из snRNA и белковых комплексов. Сплайсосома может обеспечивать удаление интронов из транскрибируемой pre-mRNA.

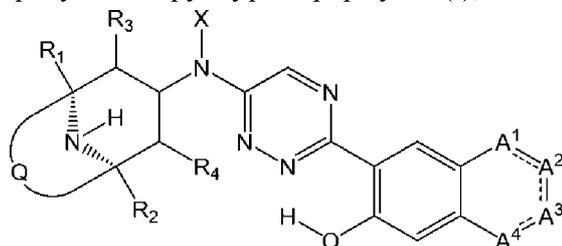
#### [064] Низкомолекулярные модуляторы сплайсинга (SMSM)

[065] Настоящее изобретение предусматривает неожиданное открытие того, что некоторые малые химические молекулы могут модифицировать события сплайсинга в молекулах pre-mRNA, при этом такие молекулы в данном документе называются

низкомолекулярными модуляторами сплайсинга (SMSM). Такие SMSM могут модулировать конкретные события сплайсинга в конкретных молекулах pre-mRNA и следовательно являются применимыми в лечении, предупреждении или облегчении заболевания или состояния, ассоциированных с конкретной РНК. Такие SMSM могут действовать посредством различных механизмов для модифицирования событий сплайсинга. Например, SMSM по настоящему изобретению могут 1) препятствовать образованию и/или функционированию и/или другим свойствам комплексов сплайсинга, сплайсосом и/или их компонентов, таких как hnRNP, snRNP, SR-белки и другие факторы или элементы сплайсинга, что приводит к предупреждению или индуцированию события сплайсинга в молекуле pre-mRNA. В качестве другого примера, 2) предупреждать и/или модифицировать посттранскрипционную регуляцию (например, сплайсинг) генных продуктов, таких как hnRNP, snRNP, SR-белки и другие факторы сплайсинга, которые впоследствии могут быть вовлечены в образование и/или функционирование сплайсосомы или компонента комплекса сплайсинга; 3) предупреждать и/или модифицировать фосфорилирование, гликозилирование и/или другие модификации генных продуктов, включая без ограничения hnRNP, snRNP, SR-белки и другие факторы сплайсинга, которые впоследствии могут быть вовлечены в образование и/или функционирование сплайсосомы или компонента комплекса сплайсинга; 4) связываться с конкретной pre-mRNA и/или иным образом влиять на нее с обеспечением таким образом предупреждения или индуцирования конкретного события сплайсинга, например посредством механизма, который не предусматривает спаривания оснований с РНК специфическим в отношении последовательности образом. Малые молекулы по настоящему изобретению отличаются от антисмысловых или антигенных олигонуклеотидов и не связаны с ними.

[066] В данном документе описаны соединения, модифицирующие сплайсинг генных продуктов для применения в лечении, предупреждении и/или задержке прогрессирования заболеваний или состояний.

[067] В одном аспекте в данном документе описано соединение, которое характеризуется структурой формулы (I),

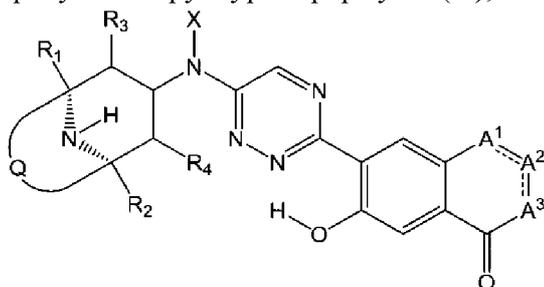


Формула (I),

где Q представляет собой замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>алкилен или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>гетероалкилен; X представляет собой водород, CH<sub>3</sub> или замещенный или незамещенный C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>циклоалкил; каждый из R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляет собой водород, галоген или CH<sub>3</sub>; каждый из R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub> независимо представляет собой водород или галоген; каждый из A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup> и A<sup>4</sup> независимо представляет собой N, -

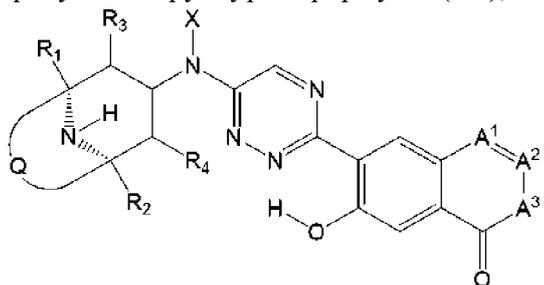
$\text{NR}^{\text{Y1}}$ -,  $-\text{O}-$ -,  $-\text{S}-$  или  $\text{CR}^{\text{A1}}$ ; каждый  $\text{---}$  независимо представляет собой одинарную или двойную связь; каждый  $\text{R}^{\text{A1}}$  независимо представляет собой водород, галоген,  $=\text{O}$  или замещенный или незамещенный  $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил; и каждый  $\text{R}^{\text{Y1}}$  независимо представляет собой водород или замещенный или незамещенный  $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил; или его фармацевтически приемлемая соль или фармацевтически приемлемый сольват.

[068] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ia),



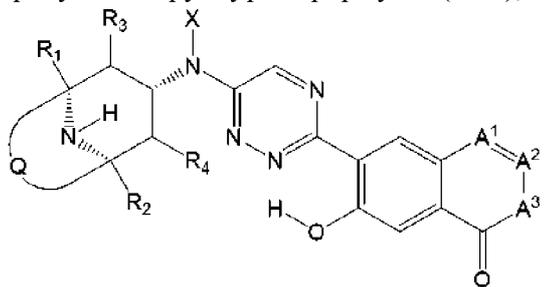
Формула (Ia).

[069] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iaa),



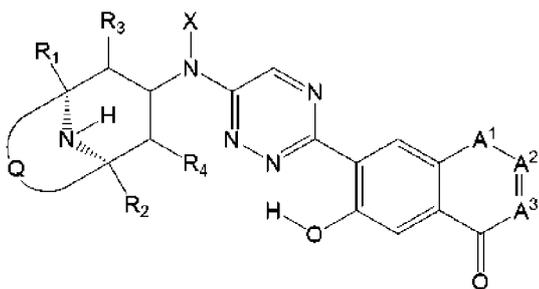
Формула (Iaa).

[070] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iaa\*),



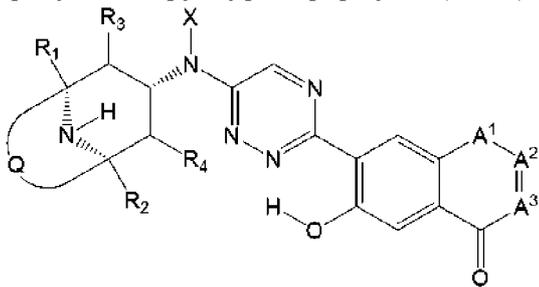
Формула (Iaa\*).

[071] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iaaa),



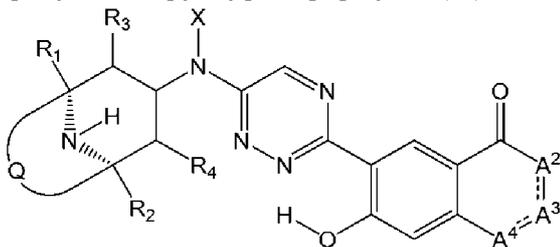
Формула (Iaaa).

[072] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iaaa\*),



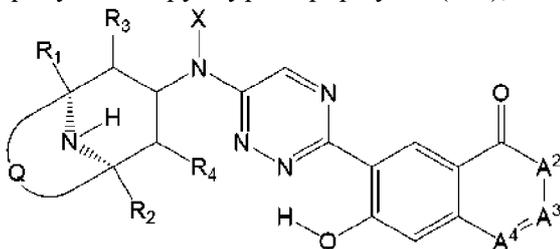
Формула (Iaaa\*).

[073] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ib),



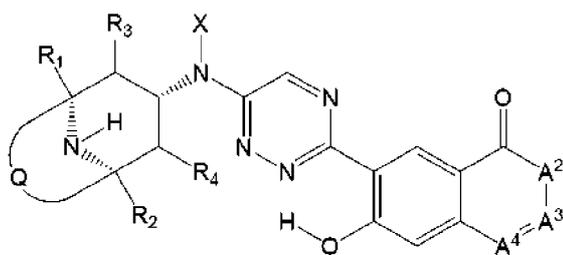
Формула (Ib).

[074] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ibb),



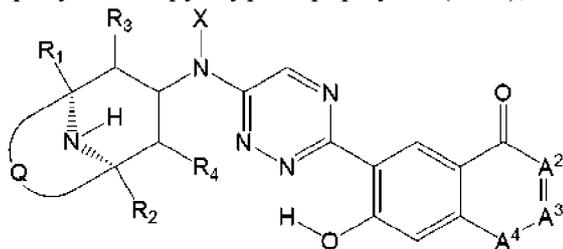
Формула (Ibb).

[075] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ibb\*),



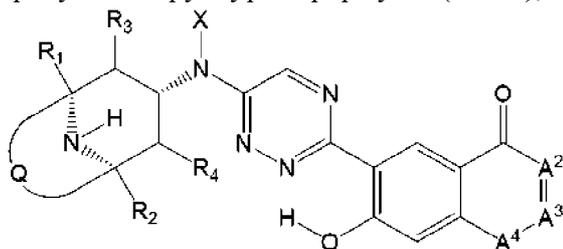
Формула (Ibb\*).

[076] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ibbb),



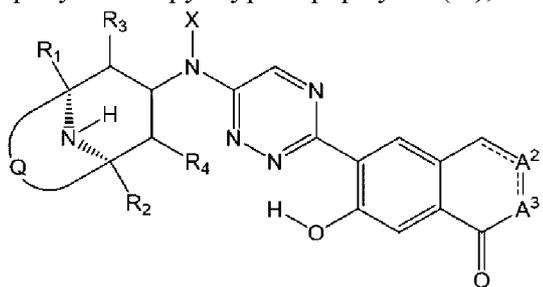
Формула (Ibbb).

[077] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ibbb\*),



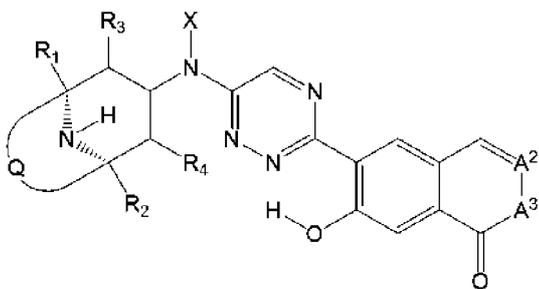
Формула (Ibbb\*).

[078] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ic),



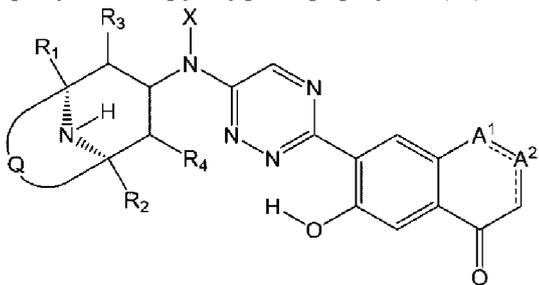
Формула (Ic).

[079] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Icc),



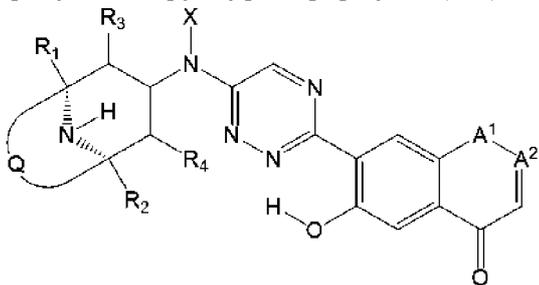
Формула (Icc).

[080] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Id),



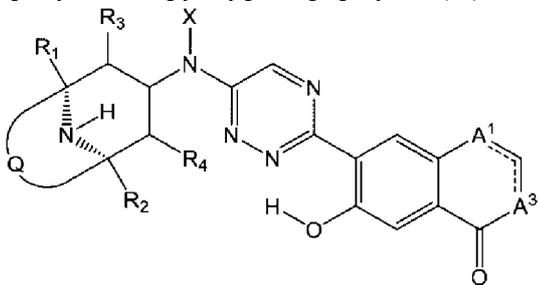
Формула (Id).

[081] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Id),



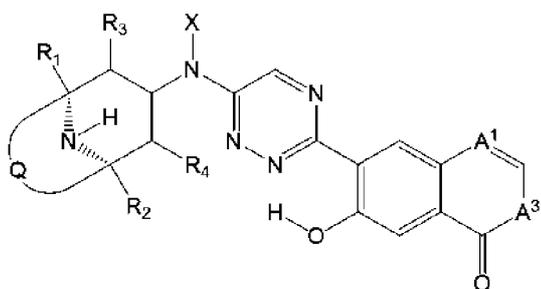
Формула (Id).

[082] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ie),



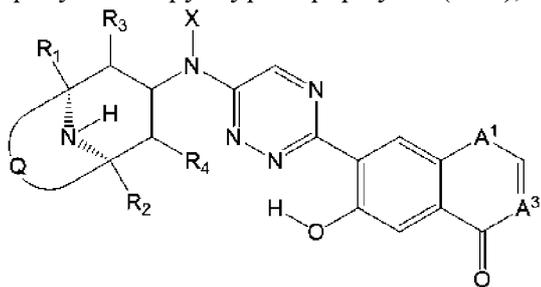
Формула (Ie).

[083] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iee),



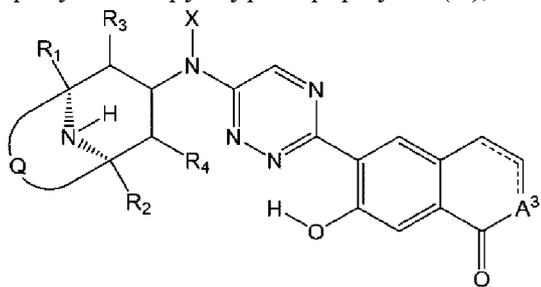
Формула (Iee).

[084] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iee),



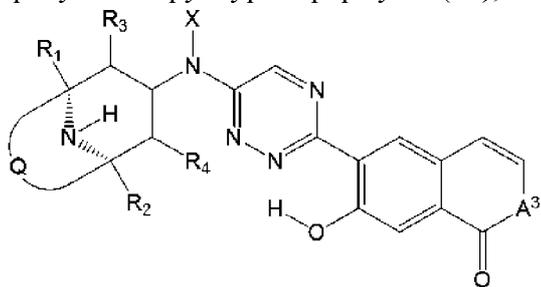
Формула (Ieee).

[085] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (If),



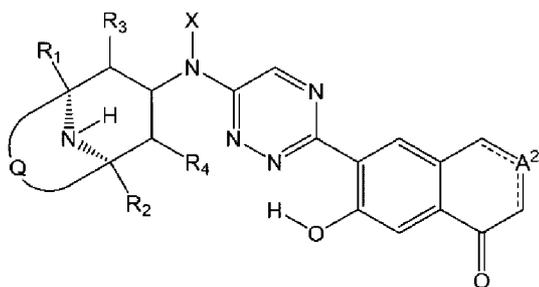
Формула (If).

[086] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Iff),



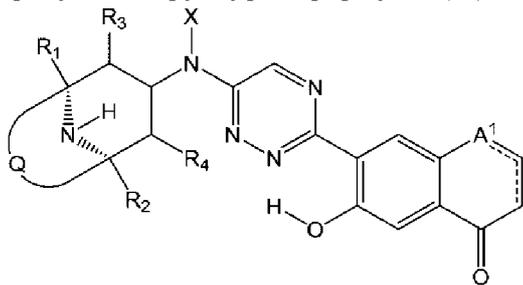
Формула (Iff).

[087] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ig),



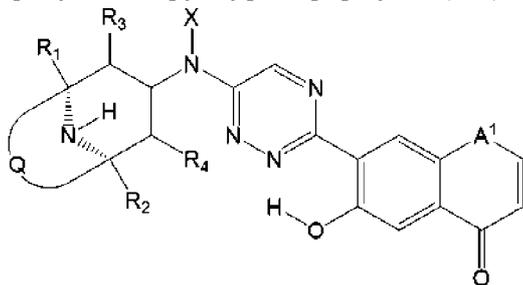
Формула (Ig).

[088] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ih),



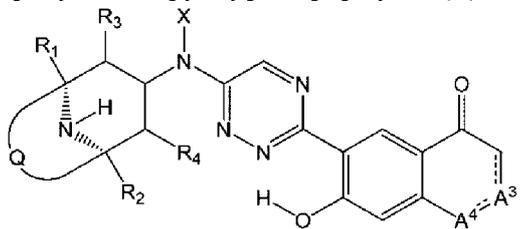
Формула (Ih).

[089] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ihh),



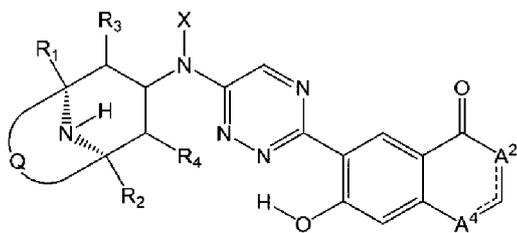
Формула (Ihh).

[090] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ii),



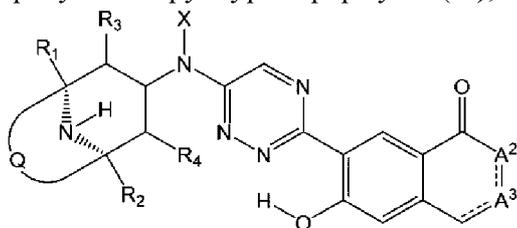
Формула (Ii).

[091] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ij),



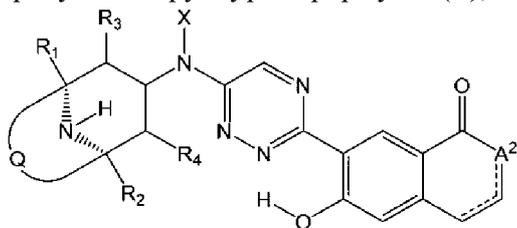
Формула (Ij).

[092] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Ik),



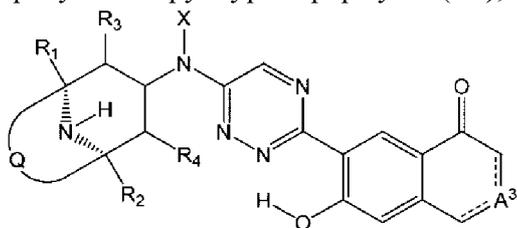
Формула (Ik).

[093] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Il),



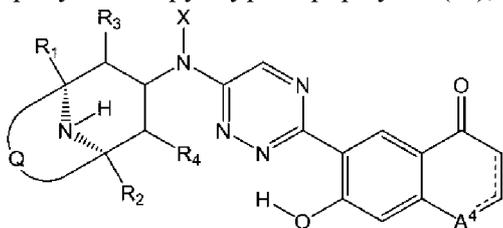
Формула (Il).

[094] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) характеризуется структурой формулы (Im),



Формула (Im).

[095] В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) характеризуется структурой формулы (In),



Формула (In).

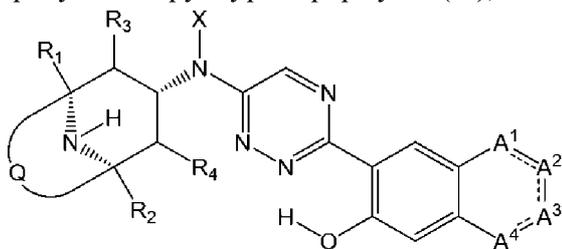
[096] В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), формулы (Ia),

формулы (Ib), формулы (Ic), формулы (Id), формулы (Ie), формулы (If), формулы (Ig), формулы (Ih), формулы (Ij), формулы (Ij), формулы (Ik), формулы (Il), формулы (Im) или формулы (In) атом азота, несущий группу X, находится в экваториальном положении по отношению к гетероциклическому кольцу, несущему заместители R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub>.

[097] В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (Iaa), формулы (Iaaa), формулы (Ibb), формулы (Ibbb), формулы (Icc), формулы (Idd), формулы (Iee), формулы (Ieee), формулы (Iff) или формулы (Ihh) атом азота, несущий группу X, находится в экваториальном положении по отношению к гетероциклическому кольцу, несущему заместители R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub>.

[098] В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), формулы (Ia), формулы (Ib), формулы (Ic), формулы (Id), формулы (Ie), формулы (If), формулы (Ig), формулы (Ih), формулы (Ij), формулы (Ij), формулы (Ik), формулы (Il), формулы (Im), формула (In), формулы (Iaa), формулы (Iaaa), формулы (Ibb), формулы (Ibbb), формулы (Icc), формулы (Idd), формулы (Iee), формулы (Ieee), формулы (Iff) или формулы (Ihh) атом азота, несущий группу X, и группа N-H находятся на одной стороне плоскости. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), формулы (Ia), формулы (Ib), формулы (Ic), формулы (Id), формулы (Ie), формулы (If), формулы (Ig), формулы (Ih), формулы (Ij), формулы (Ij), формулы (Ik), формулы (Il), формулы (Im), формулы (In), формулы (Iaa), формулы (Iaaa), формулы (Ibb), формулы (Ibbb), формулы (Icc), формулы (Idd), формулы (Iee), формулы (Ieee), формулы (Iff) или формулы (Ihh) атом азота, несущий группу X, и группа Q находятся по разные стороны плоскости.

[099] В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) характеризуется структурой формулы (Io),



Формула (Io).

[0100] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из R<sub>3</sub> или R<sub>4</sub> представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления R<sub>3</sub> представляет собой фтор, и R<sub>4</sub> представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R<sub>3</sub> представляет собой водород, и R<sub>4</sub> представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления R<sup>3</sup> представляет собой водород или F. В некоторых вариантах осуществления R<sup>3</sup> представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R<sup>3</sup> представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления R<sup>4</sup> представляет собой водород или F. В некоторых вариантах осуществления R<sup>4</sup> представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R<sup>4</sup> представляет собой F.

[0101] В некоторых вариантах осуществления A<sup>1</sup> представляет собой CH, CF, C(CH<sub>3</sub>),







F. В некоторых вариантах осуществления  $A^4$  представляет собой  $NR^{Y1}$ . В некоторых вариантах осуществления  $A^4$  представляет собой  $NR^{Y1}$ , и  $R^{Y1}$  представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления  $A^4$  представляет собой  $NR^{Y1}$ , и  $R^{Y1}$  представляет собой замещенный или незамещенный  $C_1$ - $C_6$ алкил. В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой  $C_1$ - $C_6$ алкил, который необязательно замещен одним или более атомами галогена (такими как F). В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1$ - $C_3$ алкил. В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой  $C_1$ - $C_3$ алкил, который необязательно замещен одним или более атомами F. В некоторых вариантах осуществления один или более атомов водорода в  $R^{Y1}$  заменены дейтерием. В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой метил, этил,  $CF_3$ ,  $CHF_2$  или  $CH_2CF_3$ . В некоторых вариантах осуществления  $R^{Y1}$  представляет собой  $CD_3$  или  $CD_2CD_3$ .

[0106] В некоторых вариантах осуществления один из  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$  и  $A^4$  представляет собой  $C(=O)$ .

[0107] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) содержит по меньшей мере 20 атомов углерода, 5 атомов азота и 1 атом фтора. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) содержит по меньшей мере 18 атомов углерода (например, 18, 19 или 20 атомов углерода), 6 атомов азота и 1 атом фтора. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) содержит по меньшей мере 18 атомов углерода (например, 18, 19 или 20 атомов углерода), 7 атомов азота и 1 атом фтора.

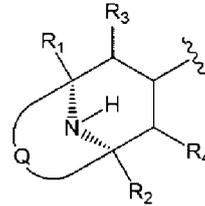
[0108] В некоторых вариантах осуществления X представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой  $-CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой  $-CD_3$ . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой замещенный или незамещенный  $C_3$ - $C_6$ циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой замещенный или незамещенный циклопропил, замещенный или незамещенный циклобутил или замещенный или незамещенный циклопентил. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой циклопропил, циклобутил или циклопентил, каждый из которых замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из фтора, OH,  $CH_3$  и  $OCH_3$ . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой циклопропил.

[0109] В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  представляет собой водород или  $CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  представляет собой  $CH_3$ .

[0110] В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  представляет собой водород или  $CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  представляет собой  $CH_3$ .

[0111] В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой замещенный или незамещенный  $C_1$ - $C_7$ алкилен. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой замещенный или незамещенный  $C_1$ - $C_7$ гетероалкилен. В некоторых вариантах

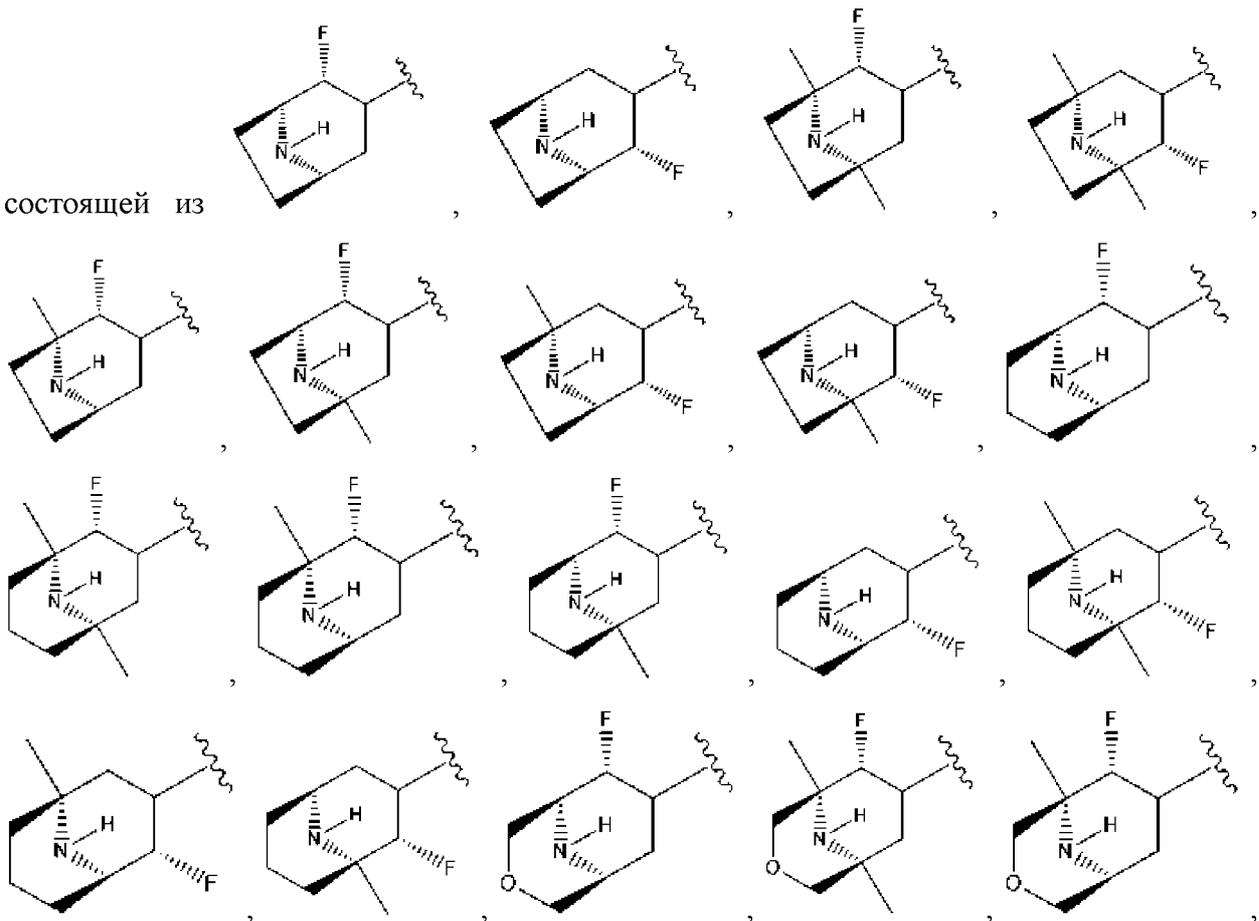
осуществления Q необязательно замещен одним или более заместителями, выбранными из C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>алкила и галогена. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой замещенный или незамещенный C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой замещенный или незамещенный C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен, замещенный 1, 2, 3 или 4 заместителями, каждый из которых независимо выбран из фтора, OH, CH<sub>3</sub> и OCH<sub>3</sub>. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен, необязательно замещенный галогеном. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>алкилен, необязательно замещенный одним или более атомами F. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>гетероалкилен, необязательно замещенный одним или более атомами F.

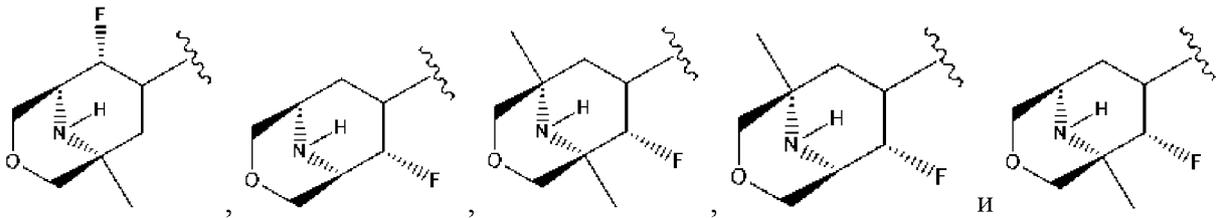


[0112] В некоторых вариантах осуществления

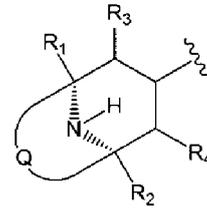
выбран из группы,

состоящей из

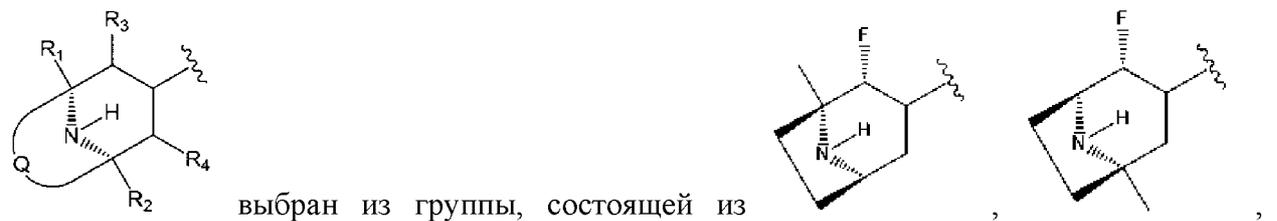
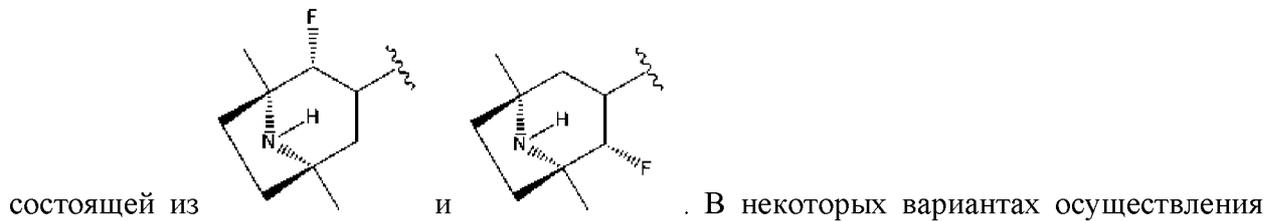
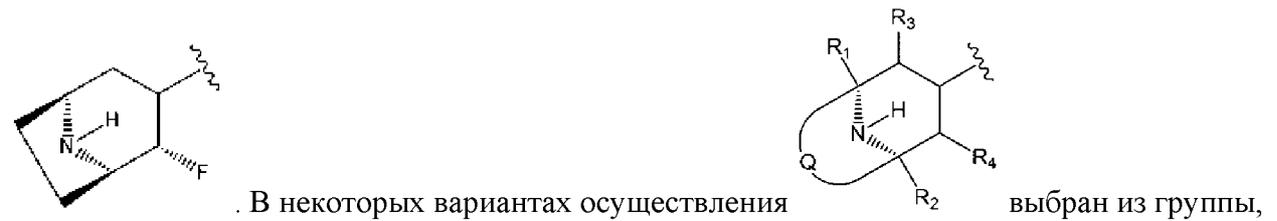
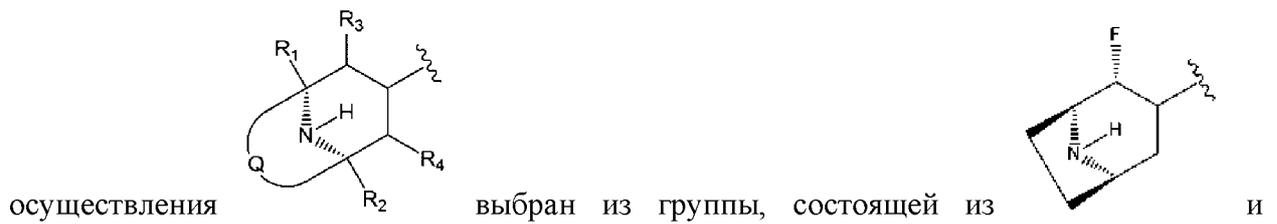
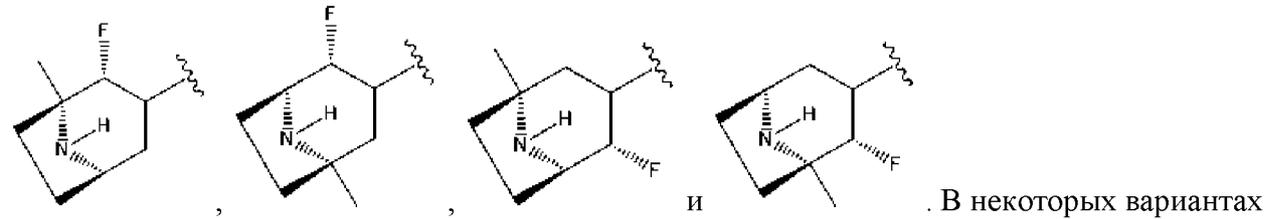
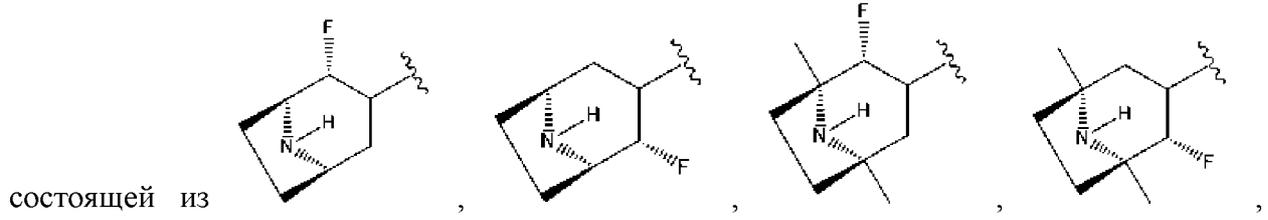


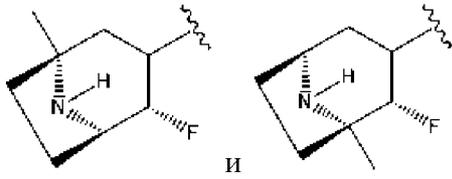


[0113] В некоторых вариантах осуществления

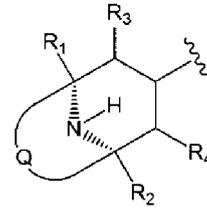


выбран из группы,



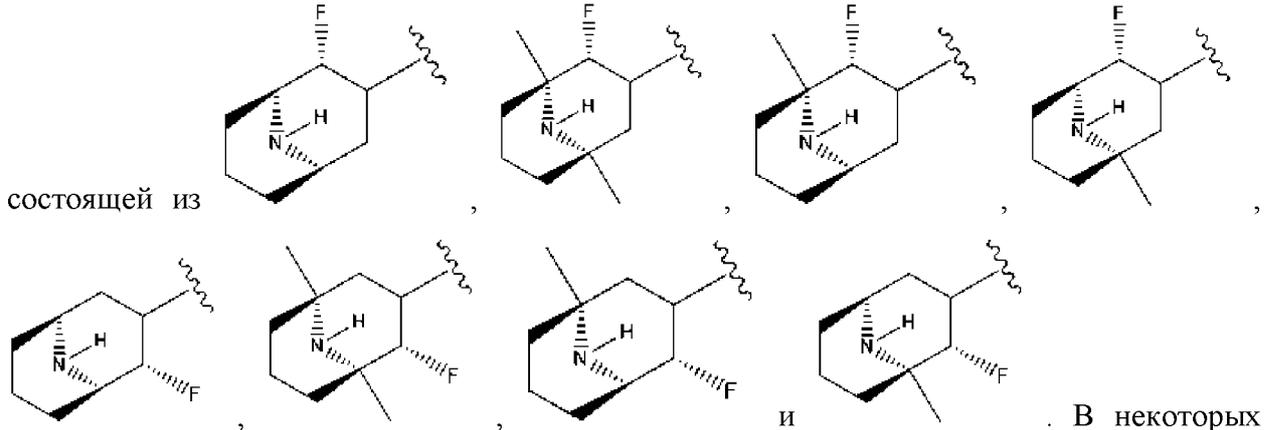


и

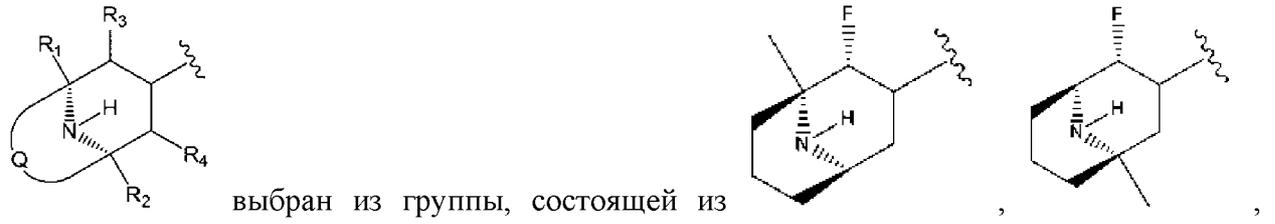
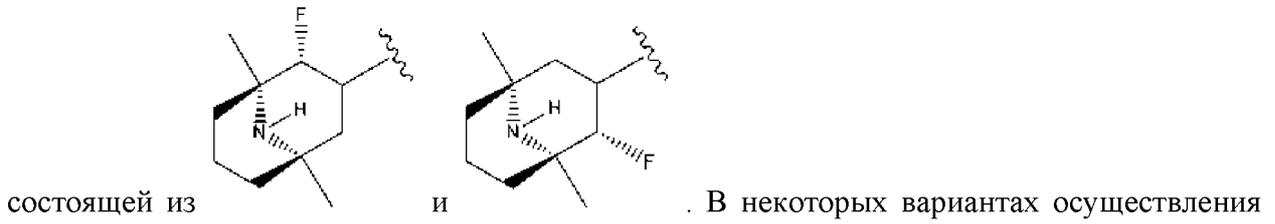
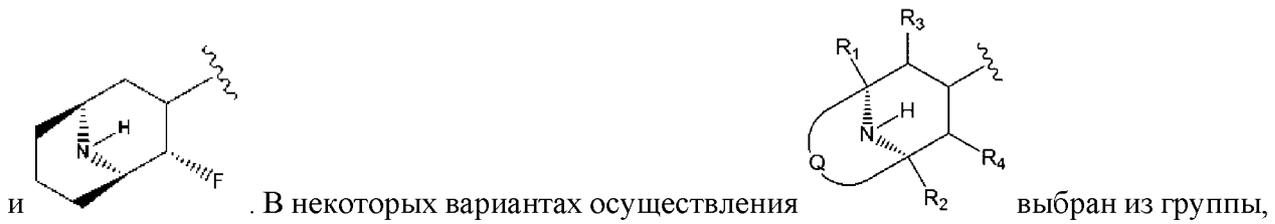
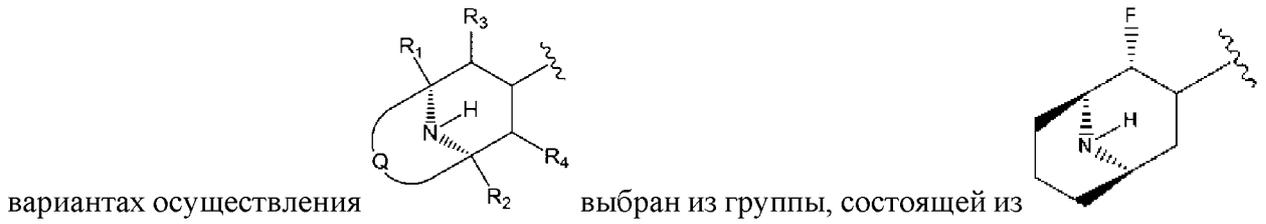


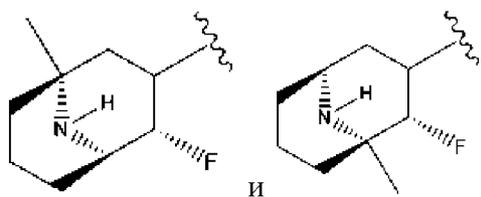
[0114] В некоторых вариантах осуществления

выбран из группы,

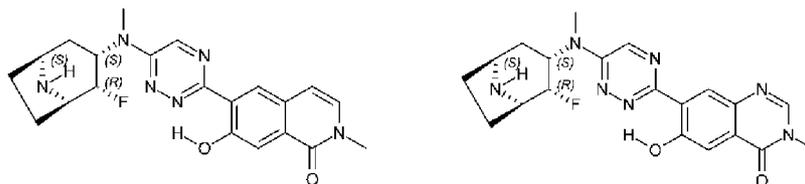


В некоторых

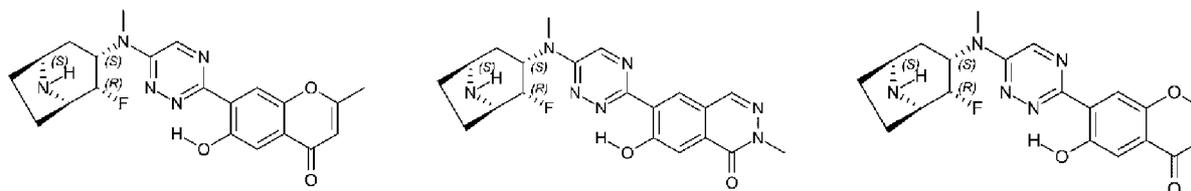




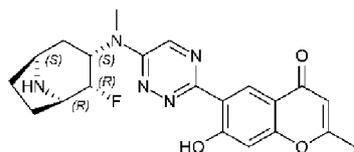
[0115] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) выбрано из



группы, состоящей из



и



[0116] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы I выбрано из соединений в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы I выбрано из соединений в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой: 6-(6-{{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил]}(метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метил-1,2-дигидроизохинолин-1-он; 7-(6-{{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил]}(метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-3-метил-3,4-дигидрохиназолин-4-он; 7-(6-{{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил]}(метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-он; 6-(6-{{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил]}(метил)амино}-1,2,4-



любого из описанных соединений. В некоторых вариантах осуществления в данном документе описаны фармацевтически приемлемые соль или сольват любого из описанных соединений.

[0117] В одном аспекте в данном документе раскрыт способ модулирования сплайсинга, включающий приведение в контакт соединения по любому из предыдущих пунктов с клетками, где соединение модулирует сплайсинг в последовательности сайта сплайсинга pre-mRNA, которая кодирует мРНК, где мРНК кодирует целевой белок или функциональную РНК.

[0118] В одном аспекте в данном документе раскрыт способ лечения заболевания или состояния, включающий введение соединения по настоящему изобретению.

[0119] В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, содержит один или более стереоцентров, и каждый стереоцентр существует независимо либо в R-, либо в S-конфигурации. Соединения, представленные в данном документе, включают все диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также их подходящие смеси. Соединения и способы, предусмотренные в данном документе, включают все цис-, транс-, син-, анти-, E- (entgegen) и Z-изомеры (zusammen), а также их подходящие смеси. В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, получены в виде их отдельных стереоизомеров посредством осуществления реакции рацемической смеси соединения с оптически активным расщепляющим средством с образованием пары диастереоизомерных соединений/солей, разделения диастереомеров и извлечения оптически чистых энантиомеров. В некоторых вариантах осуществления разделение энантиомеров проводят с применением ковалентных диастереомерных производных соединений, описанных в данном документе. В другом варианте осуществления диастереомеры разделяют посредством методик разделения/разрешения, основанных на отличиях в растворимости. В других вариантах осуществления разделение стереоизомеров проводят посредством хроматографии или путем образования диастереомерных солей и разделением посредством перекристаллизации или хроматографии, или любой их комбинации. Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, «Enantiomers, Racemates and Resolutions», John Wiley And Sons, Inc., 1981. В одном аспекте стереоизомеры получены посредством стереоселективного синтеза.

[0120] В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, получены в виде пролекарств. «Пролекарство» относится к средству, которое преобразуется в исходное лекарственное средство *in vivo*. Пролекарства часто используются поскольку в некоторых ситуациях их может быть легче вводить, чем исходное лекарственное средство. Они могут, например, быть биологически доступными при пероральном введении, в то время как исходное лекарственное средство таковым не является. Пролекарство может также характеризоваться улучшенной растворимостью в фармацевтических композициях по сравнению с исходным лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления дизайн пролекарства повышает эффективную растворимость в воде. Без ограничения примером пролекарства является описанное в

данном документе соединение, которое вводят в виде сложного эфира («пролекарство») для обеспечения переноса через клеточную мембрану, поскольку растворимость в воде препятствует такому перемещению, но которое затем метаболически гидролизуется до карбоновой кислоты, активного вещества, внутри клетки, где растворимость в воде является благоприятной. Дополнительным примером пролекарства может быть короткий пептид (полиаминокислота), связанный с кислотной группой, где пептид метаболизируется с высвобождением активного фрагмента. В некоторых вариантах осуществления при введении *in vivo* пролекарство химически преобразуется в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения. В некоторых вариантах осуществления пролекарство ферментативно метаболизируется одной или более стадиями или способами до биологически, фармацевтически или терапевтически активных форм соединения.

[0121] В одном аспекте пролекарства предназначены для изменения метаболической стабильности или транспортных характеристик лекарственного средства, для маскировки побочных эффектов или токсичности, для улучшения вкусо-ароматических свойств лекарственного средства или изменения других характеристик или свойств лекарственного средства. Благодаря знанию фармакокинетики, фармакодинамических процессов и метаболизма лекарственного средства *in vivo*, после того, как фармацевтически активное соединение известно, становится возможным создание его пролекарств (см., например, Nogrady (1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, страницы 388-392; Silverman (1992), *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, Inc., San Diego, страницы 352-401, Rooseboom *et al.*, *Pharmacological Reviews*, 56:53-102, 2004; Aesop Cho, «Recent Advances in Oral Prodrug Discovery», *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, том 41, 395-407, 2006; T. Higuchi and V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, том 14 из A.C.S. Symposium Series).

[0122] В некоторых случаях, некоторые из описанных в данном документе соединений могут быть пролекарством другого производного или активного соединения.

[0123] В некоторых вариантах осуществления сайты на части соединений, описанных в данном документе, которая представляет собой ароматическое кольцо, склонны к различным метаболическим реакциям, следовательно включение подходящих заместителей в структуру ароматического кольца уменьшит, минимизирует или устранил данный метаболический путь. В конкретных вариантах осуществления подходящим заместителем для снижения или устранения склонности ароматического кольца к метаболическим реакциям является, только в качестве примера, галоген или алкильная группа.

[0124] В другом варианте осуществления соединения, описанные в данном документе, являются мечеными изотопно (*например*, радиоактивным изотопом) или с помощью других средств, включая без ограничения применение хромофоров или флуоресцентных фрагментов, биолюминесцентных меток или хемилюминесцентных меток.

[0125] Соединения, описанные в данном документе, включают изотопно-меченные

соединения, которые идентичны тем, что указаны в различных формулах и структурах, представленных в данном документе, за исключением того, что один или более атомов заменены атомом с атомной массой или массовым числом, отличными от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в настоящие соединения включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, серы, фтора и хлора, такие как, например,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  и  $^{36}\text{Cl}$ . В одном аспекте изотопно-меченные соединения, описанные в данном документе, например те, в которые включены радиоактивные изотопы, такие как  $^3\text{H}$  и  $^{14}\text{C}$ , применимы в анализах распределения лекарственного средства и/или субстрата в ткани. В одном аспекте замещение изотопами, такими как дейтерий, обеспечивает некоторые терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, такие как, например, увеличение периода полужизни *in vivo* или снижение требований к дозировке.

[0126] В дополнительных или дальнейших вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, метаболизируются при введении в организм, нуждающийся в этом, с образованием метаболита, который затем используется для получения необходимого эффекта, включая необходимый терапевтический эффект.

[0127] Соединения, описанные в данном документе, могут образовываться и/или использоваться в виде фармацевтически приемлемых солей. Типы фармацевтически приемлемых солей включают без ограничения: (1) соли присоединения кислоты, образующиеся путем осуществления реакции формы свободного основания соединения с фармацевтически приемлемой неорганической кислотой, такой как, например, хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, фосфорная кислота, метафосфорная кислота и т. п.; или с органической кислотой, такой как, например, уксусная кислота, пропионовая кислота, гексановая кислота, циклопентанпропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, молочная кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, трифторуксусная кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, 3-(4-гидроксibenzoил)бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 1,2-этандисульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, толуолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, 4-метилбицикло-[2.2.2]окт-2-ен-1-карбоновая кислота, глюкогоптоновая кислота, 4,4'-метиленис-(3-гидрокси-2-ен-1-карбоновая кислота), 3-фенилпропионовая кислота, триметилуксусная кислота, третичная бутилуксусная кислота, лаурилсерная кислота, глюконовая кислота, глутаминовая кислота, гидроксинафтойная кислота, салициловая кислота, стеариновая кислота, муконовая кислота, масляная кислота, фенилуксусная кислота, фенилмасляная кислота, вальпроевая кислота и т. п.; (2) соли, образующиеся при замещении кислотного протона, присутствующего в исходном соединении, ионом металла, *например* ионом щелочного металла (*например*, лития, натрия, калия), ионом щелочноземельного металла (*например*,

магния или кальция) или ионом алюминия. В некоторых случаях соединения, описанные в данном документе, могут координироваться с органическим основанием, таким как без ограничения этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, трометамин, N-метилглюкамин, дициклогексиламин, трис(гидроксиметил)метиламин. В других случаях соединения, описанные в данном документе, могут образовывать соли с аминокислотами, такими как без ограничения аргинин, лизин и т. п. Приемлемые неорганические основания, применяемые для образования солей с соединениями, которые содержат кислотный протон, включают без ограничения, гидроксид алюминия, гидроксид кальция, гидроксид калия, карбонат натрия, гидроксид натрия и т. п.

[0128] Следует понимать, что ссылка на фармацевтически приемлемую соль включает формы добавления растворителя, в частности сольваты. Сольваты содержат либо стехиометрические, либо нестехиометрические количества растворителя и могут образовываться в процессе кристаллизации с фармацевтически приемлемыми растворителями, таким как вода, этанол и т. п. Гидраты образуются, если растворителем является вода, или алкоголяты образуются, если растворителем является спирт. В некоторых вариантах осуществления сольваты соединений, описанных в данном документе, удобно получать или образовывать в ходе способов, описанных в данном документе. Кроме того, соединения, предусмотренные в данном документе, могут существовать как в несольватированной, так и в сольватированной формах. В целом, при использовании для соединений и способов, предусмотренных в данном документе, сольватированные формы считаются эквивалентными несольватированным формам.

[0129] В некоторых вариантах осуществления SMSM характеризуются молекулярной массой не более приблизительно 2000 дальтон, 1500 дальтон, 1000 дальтон или 900 дальтон. В некоторых вариантах осуществления SMSM характеризуются молекулярной массой по меньшей мере 100 дальтон, 200 дальтон, 300 дальтон, 400 дальтон или 500 дальтон. В некоторых вариантах осуществления SMSM не содержит фосфодиэфирной связи.

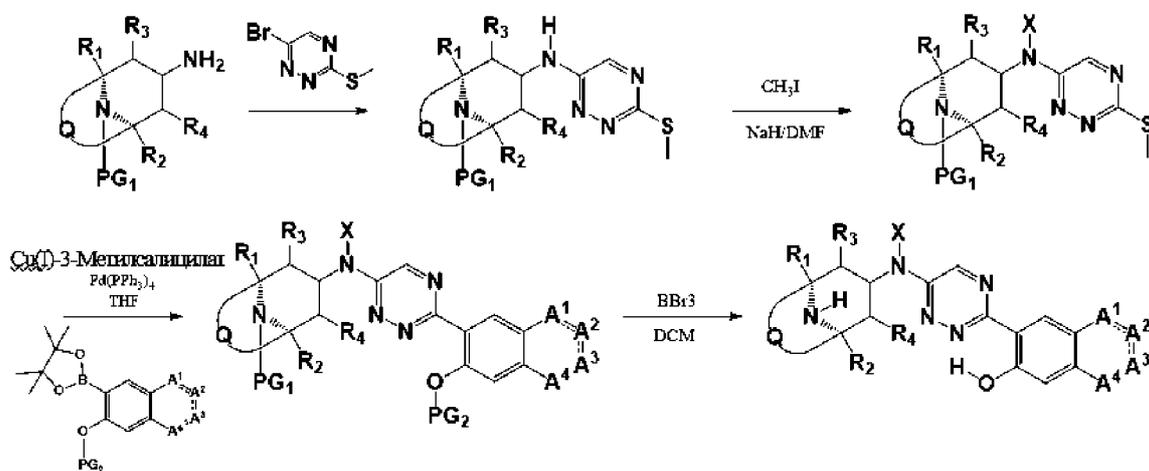
#### **Способы получения соединений**

[0130] Соединения, описанные в данном документе, могут быть синтезированы с применением стандартных методик синтеза или с применением способов, известных в уровне техники, в комбинации со способами, описанными в данном документе. Если не указано иное, могут использоваться общепринятые способы масс-спектрометрии, ЯМР, HPLC, химии белков, биохимии, технологии рекомбинантных ДНК и фармакологии. Соединения могут быть получены с применением стандартных методик органической химии, таких как те, что описаны в, например, March's Advanced Organic Chemistry, 6-е издание, John Wiley and Sons, Inc. Для синтетических преобразований, описанных в данном документе, могут использоваться альтернативные условия реакции, такие как варьирование растворителя, температуры реакции, времени реакции, а также разных химических реагентов и других условий реакции. Исходные материалы могут быть доступны из коммерческих источников или могут быть легко получены. Только в качестве примера

указано иное, могут использоваться общепринятые способы масс-спектрометрии, ЯМР, HPLC, химии белков, биохимии, технологии рекомбинантных ДНК и фармакологии. Соединения могут быть получены с применением стандартных методик органической химии, таких как те, что описаны в, например, March's Advanced Organic Chemistry, 6-е издание, John Wiley and Sons, Inc. Для синтетических преобразований, описанных в данном документе, могут использоваться альтернативные условия реакции, такие как варьирование растворителя, температуры реакции, времени реакции, а также разных химических реагентов и других условий реакции. Исходные материалы могут быть доступны из коммерческих источников или могут быть легко получены. Только в качестве примера приведены схемы получения иллюстративных SMSM.

[0131] В некоторых вариантах осуществления схемой получения SMSM, описанного в данном документе, является схема 1.

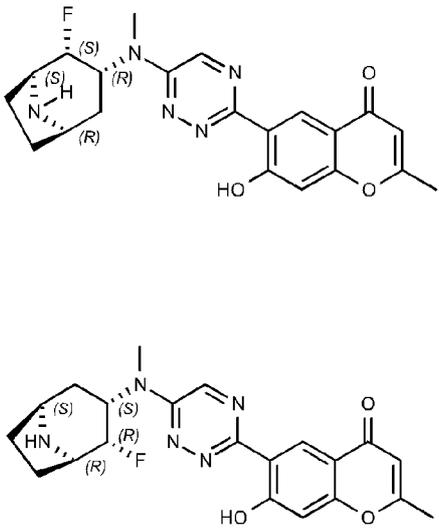
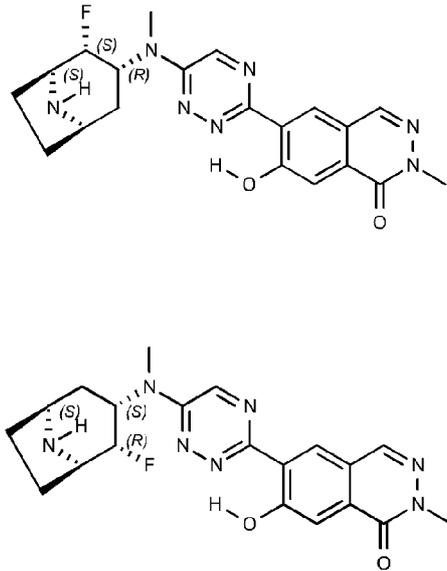
Схема 1.

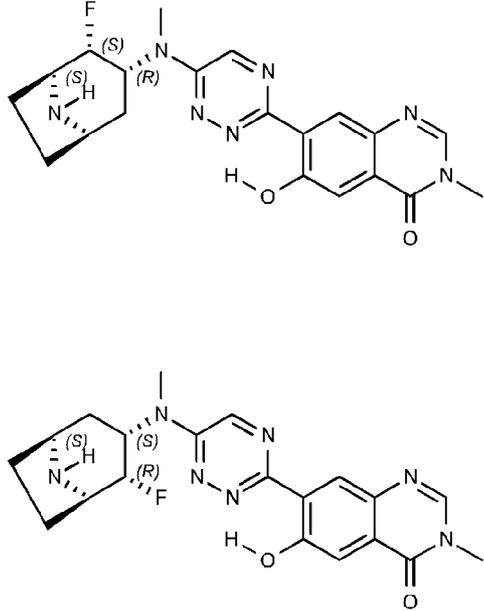
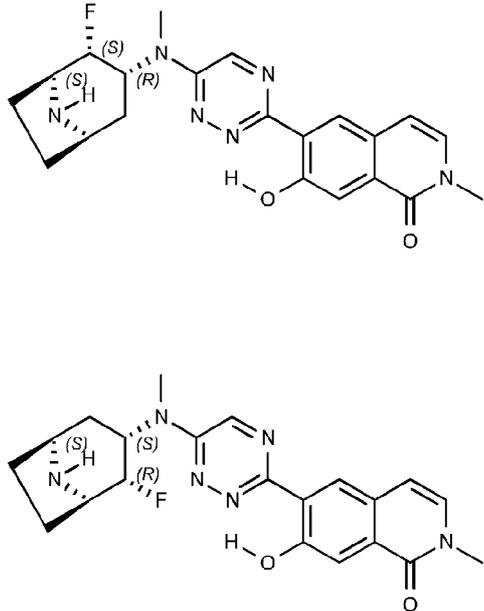


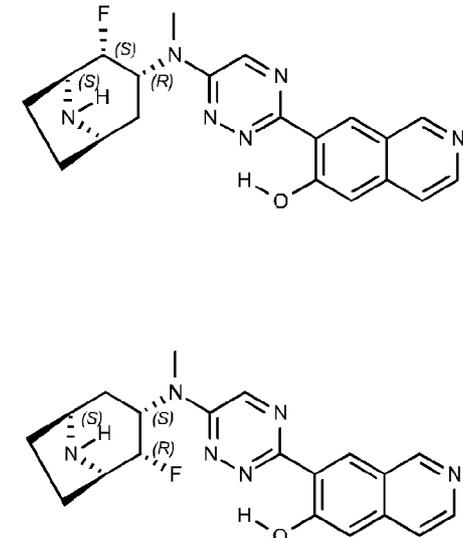
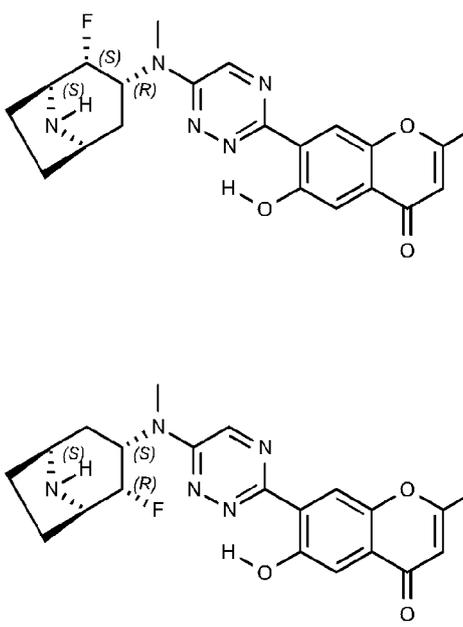
где PG<sub>1</sub> представляет собой подходящую защитную группу 1, и PG<sub>2</sub> представляет собой подходящую защитную группу 2. В некоторых вариантах осуществления PG<sub>1</sub> и PG<sub>2</sub> являются такими, как описано в примерах.

[0132] В некоторых вариантах осуществления соединение, представляющее собой SMSM, описанное в данном документе, выбрано из **таблицы 1** или **таблицы 2**. Соединения в **таблице 1** и **таблице 2** могут быть получены с применением процедур, указанных в общей схеме 1 выше и примерах 1-8 ниже.

Таблица 1. Иллюстративные соединения

Соединение	Структура
1A и 1B	
2A и 2B	

Соединение	Структура
3А и 3В	
4А и 4В	

Соединение	Структура
5А и 5В	 <p>5A и 5B</p>
6А и 6В	 <p>6А и 6В</p>

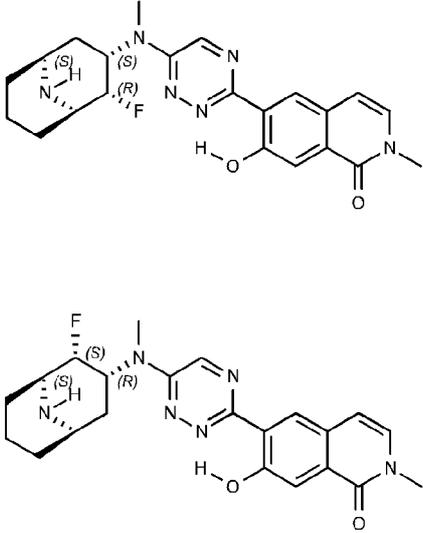
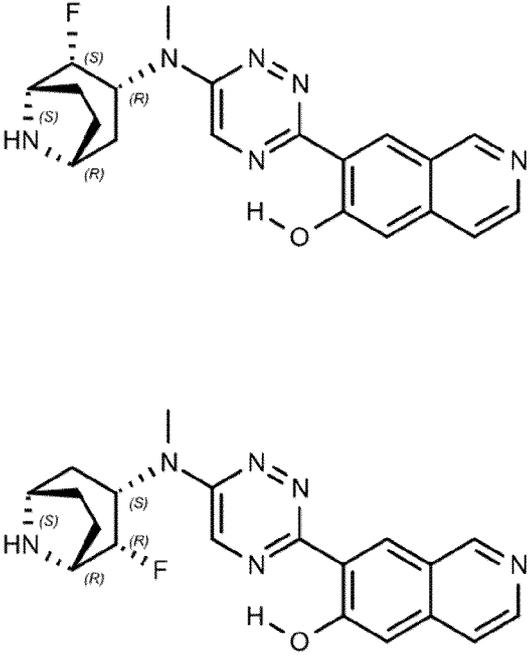
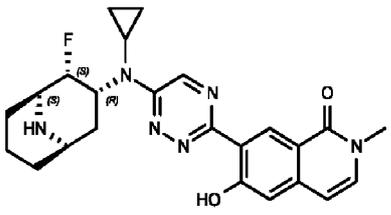
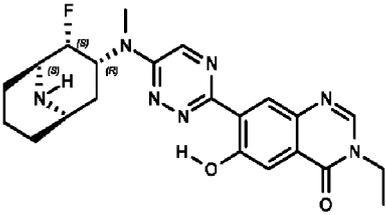
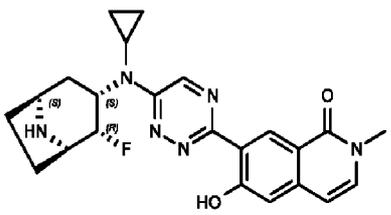
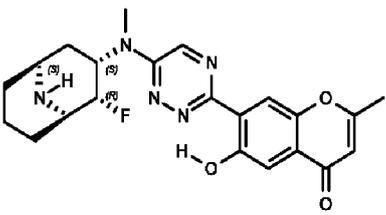
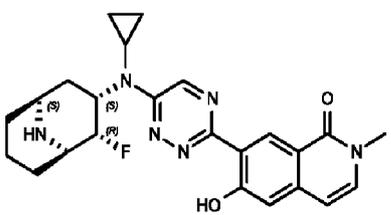
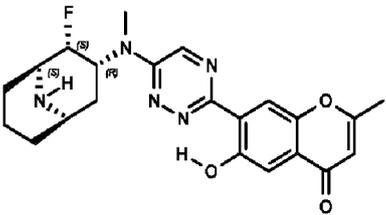
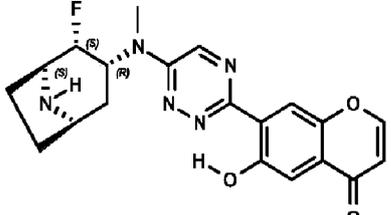
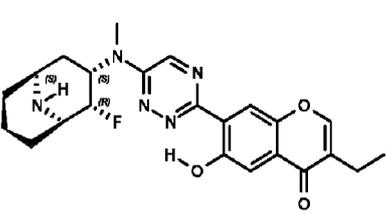
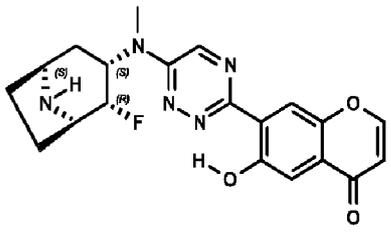
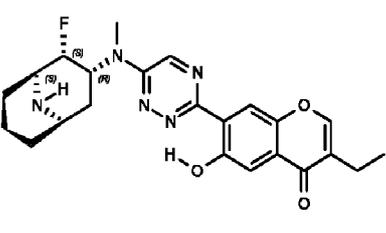
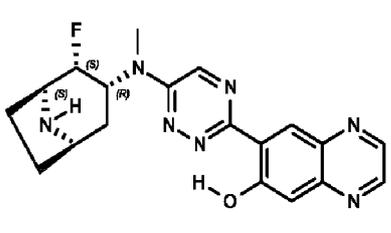
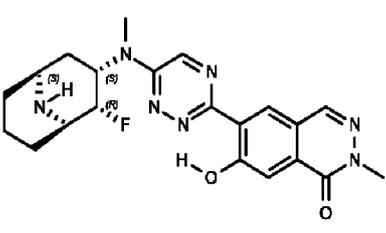
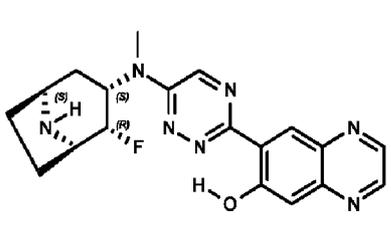
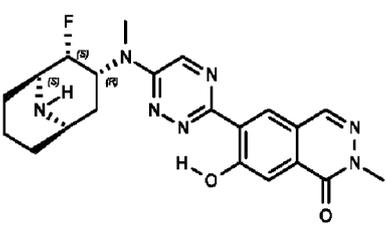
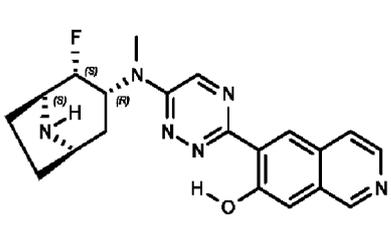
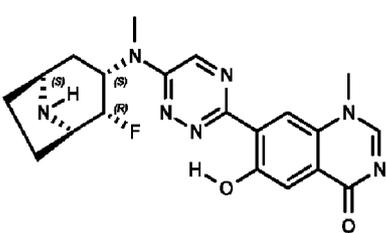
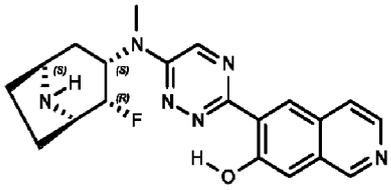
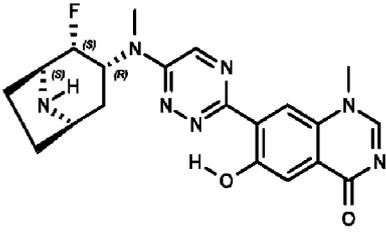
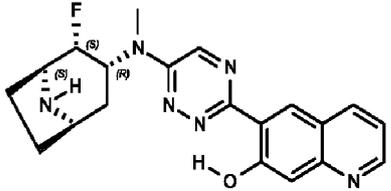
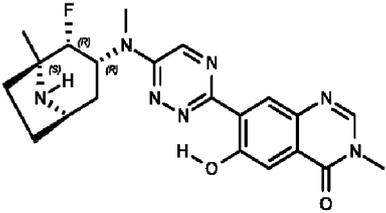
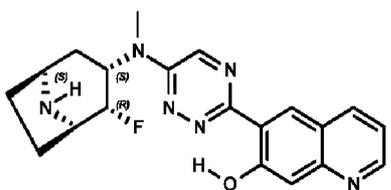
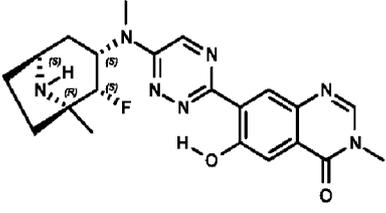
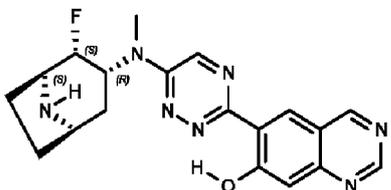
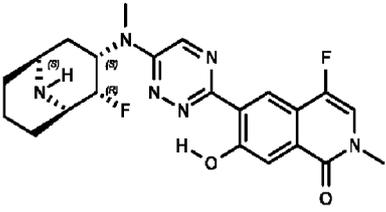
Соединение	Структура
7A и 7B	
8A и 8B	

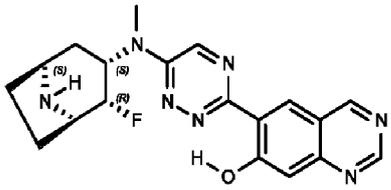
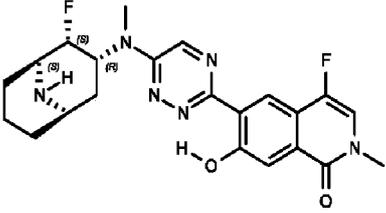
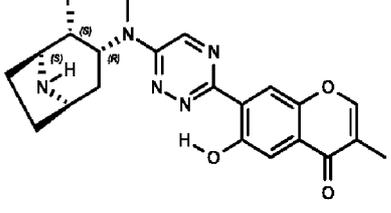
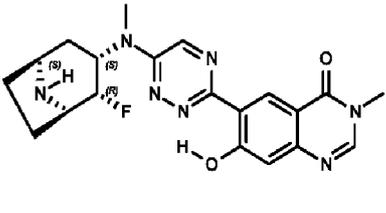
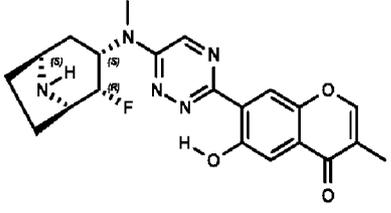
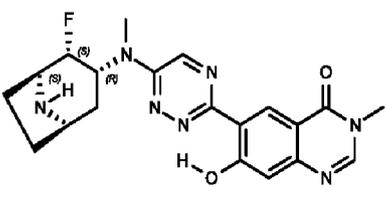
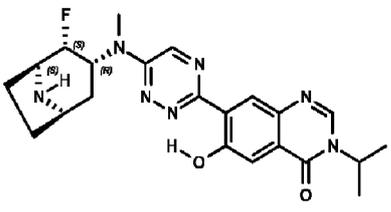
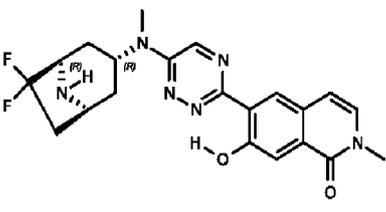
Таблица 2. Иллюстративные соединения

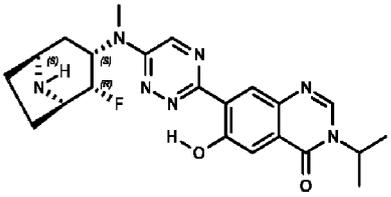
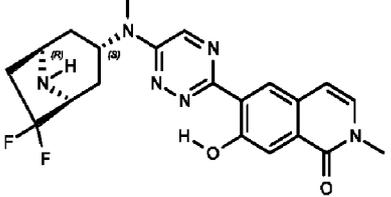
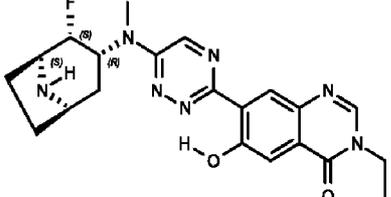
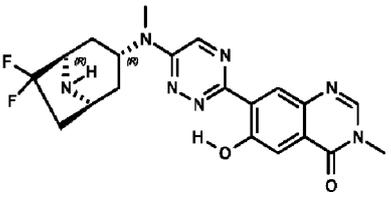
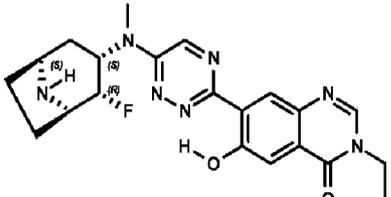
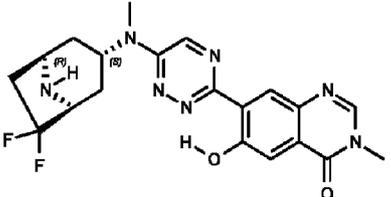
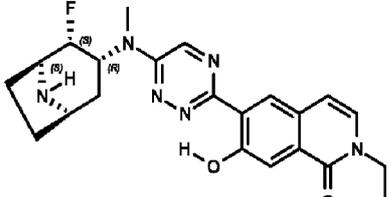
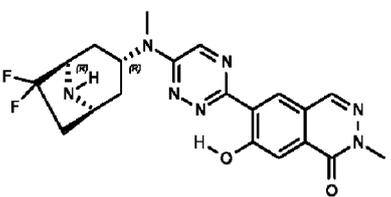
Соединение	Структура	Соединение	Структура
9		122	
10		123	
12		124	
13		125	

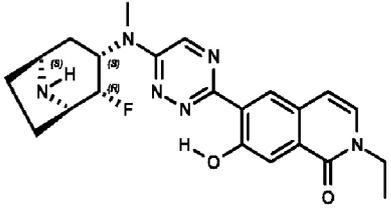
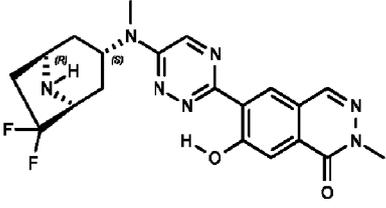
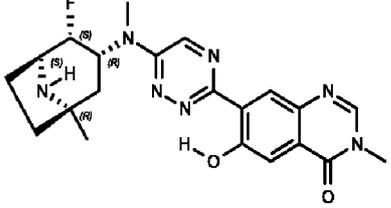
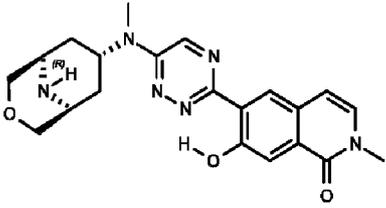
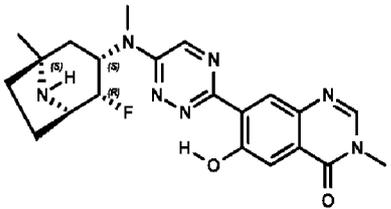
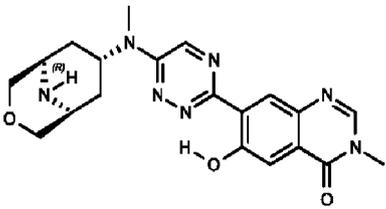
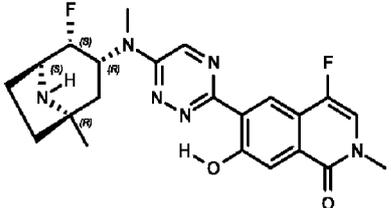
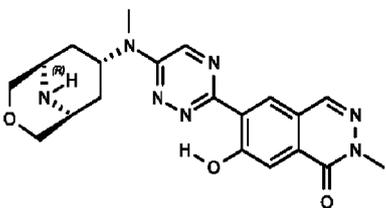
14		126	
15		127	
16		128	
17		129	

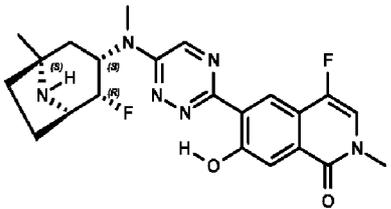
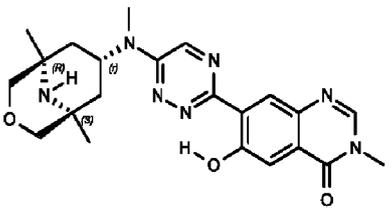
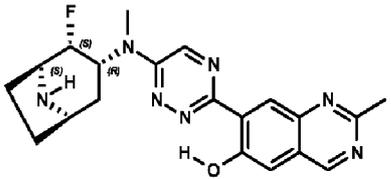
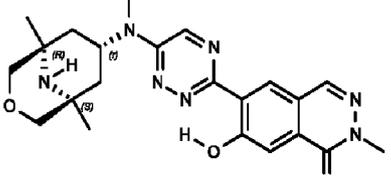
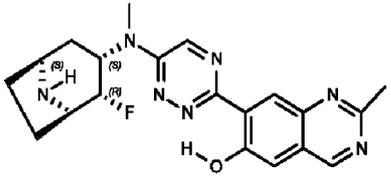
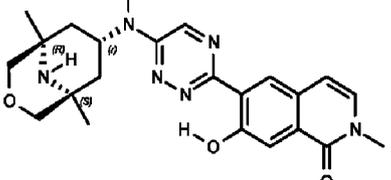
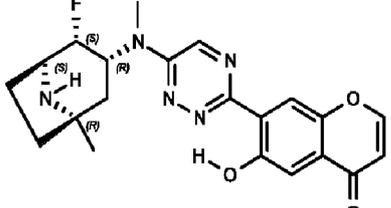
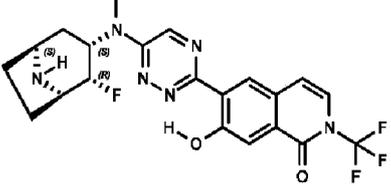
18		130	
19		131	
20		132	
21		133	

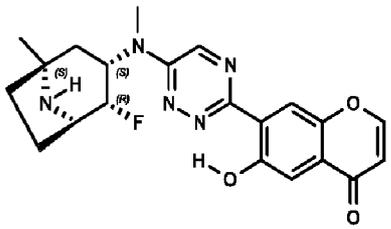
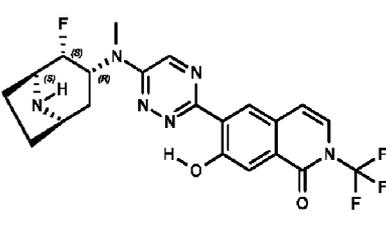
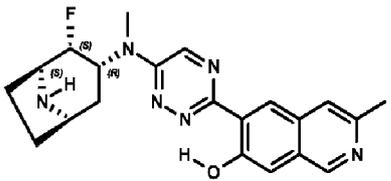
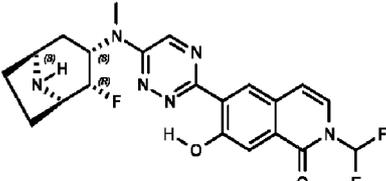
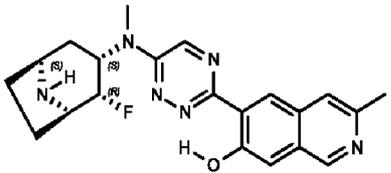
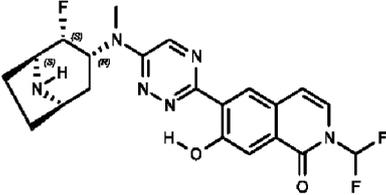
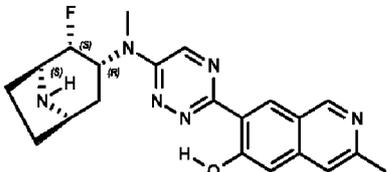
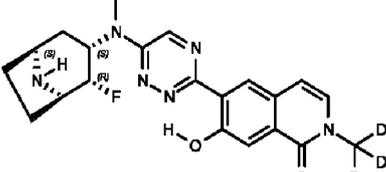
22		134	
23		135	
24		136	
25		137	

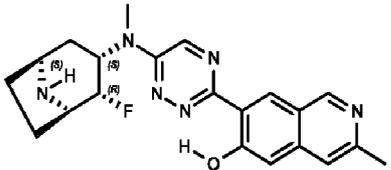
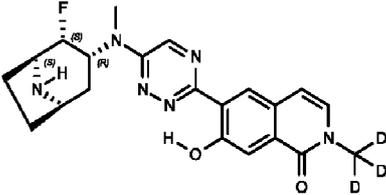
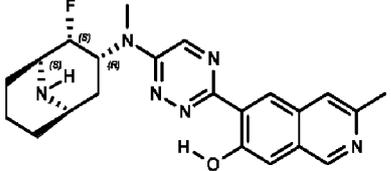
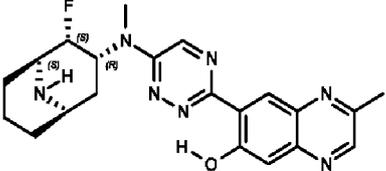
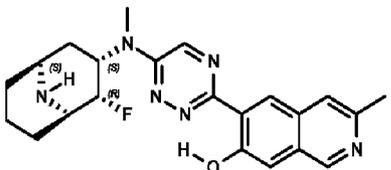
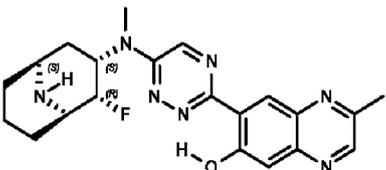
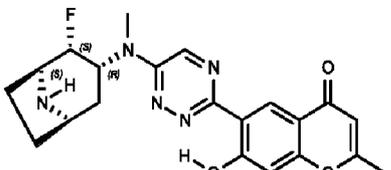
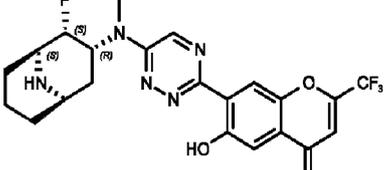
26		138	
27		139	
28		140	
29		141	

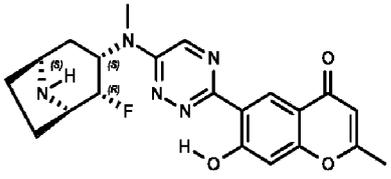
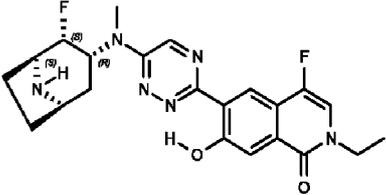
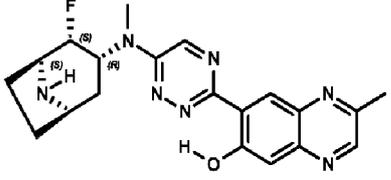
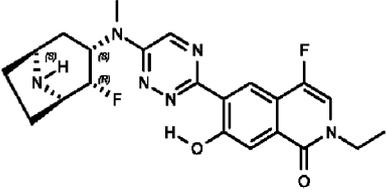
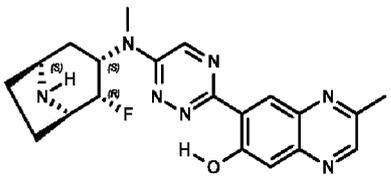
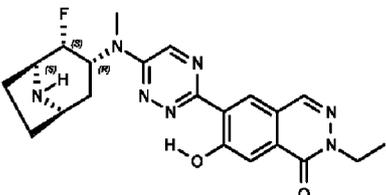
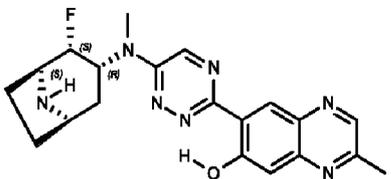
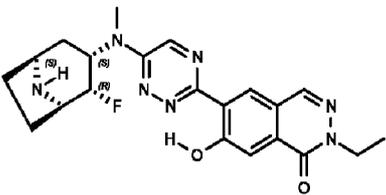
30		142	
31		143	
32		144	
33		145	

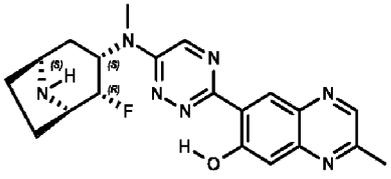
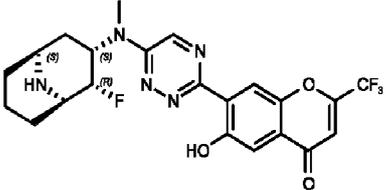
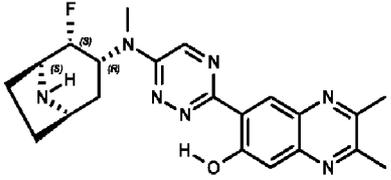
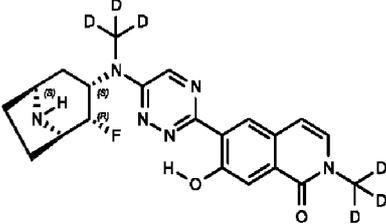
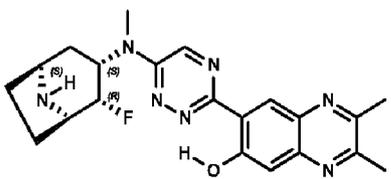
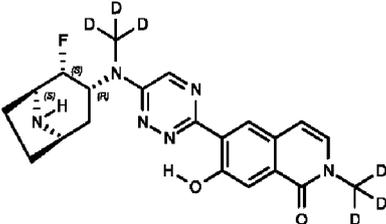
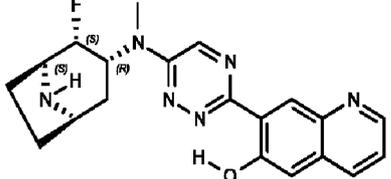
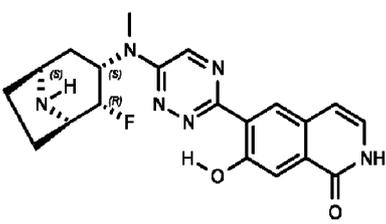
34		146	
35		147	
36		148	
37		149	

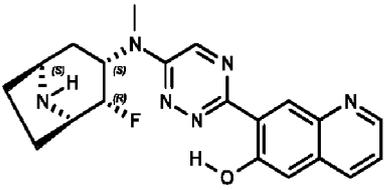
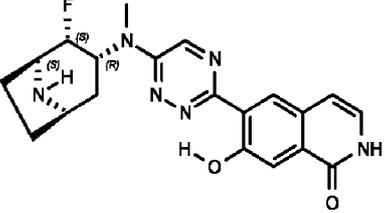
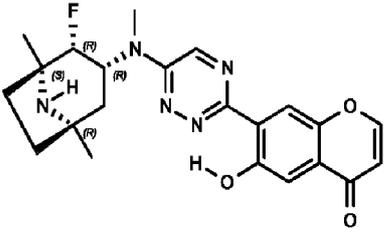
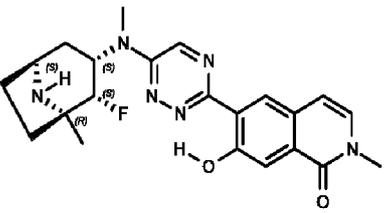
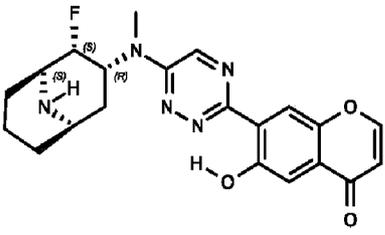
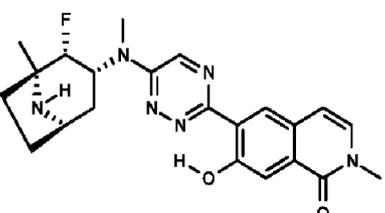
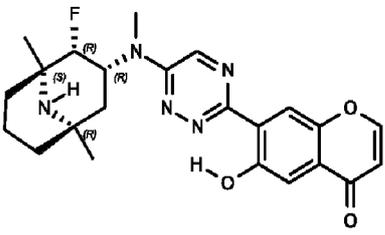
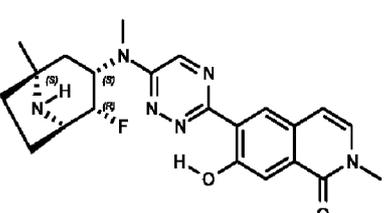
38		150	
39		151	
40		152	
41		153	

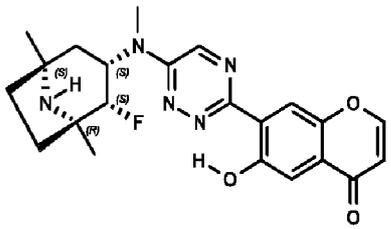
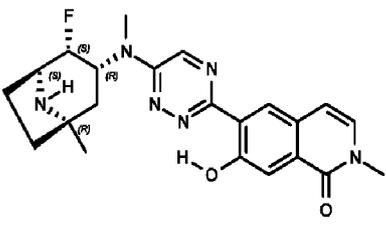
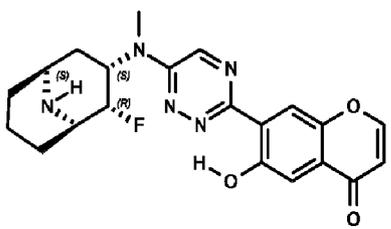
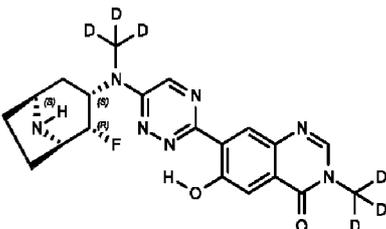
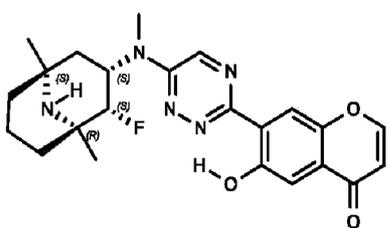
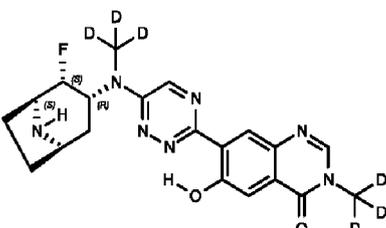
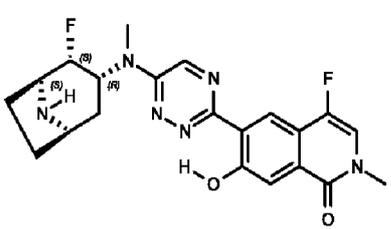
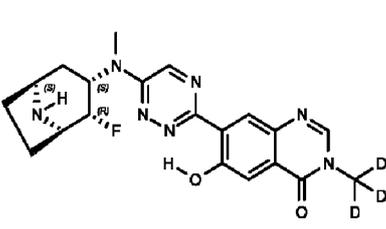
42		154	
43		155	
44		156	
45		157	

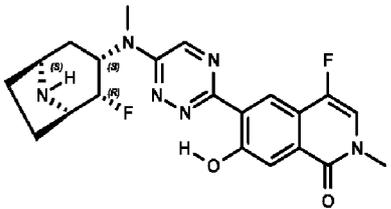
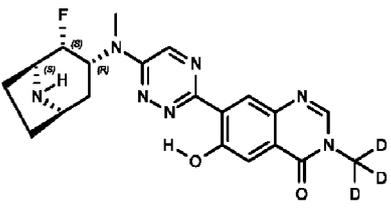
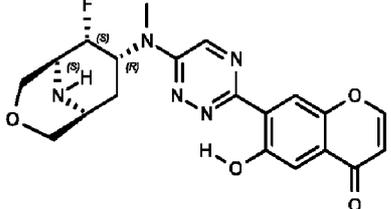
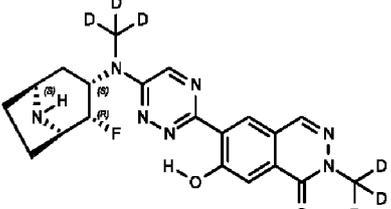
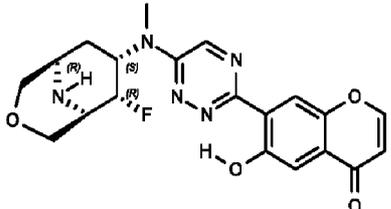
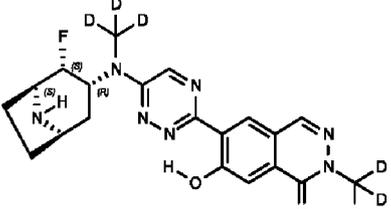
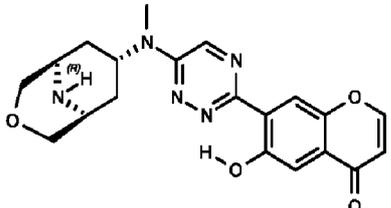
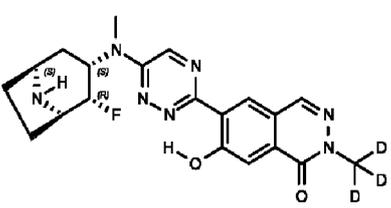
46		158	
47		159	
48		160	
49		161	

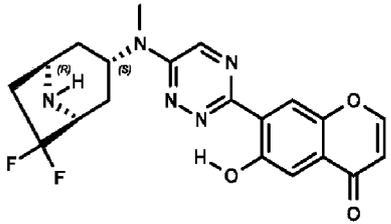
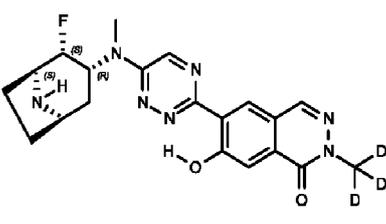
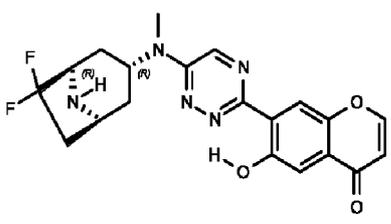
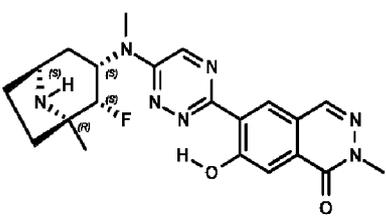
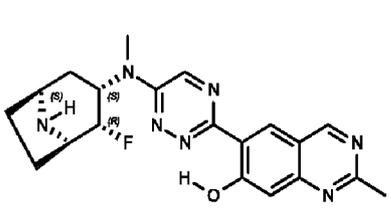
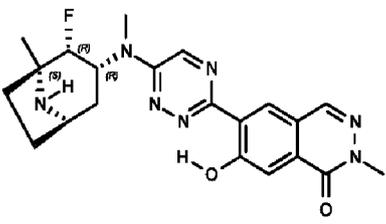
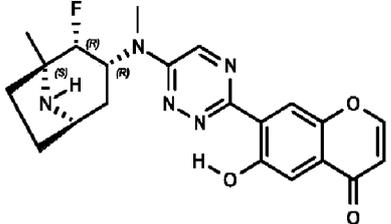
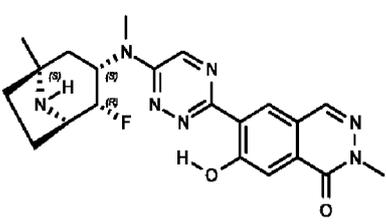
50		162	
51		163	
52		164	
53		165	

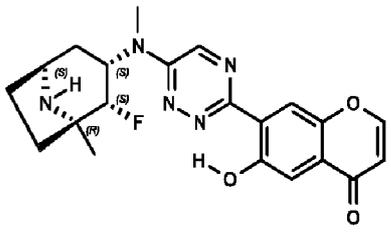
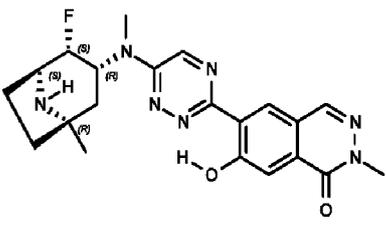
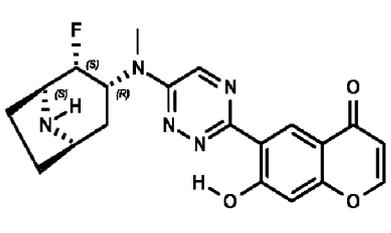
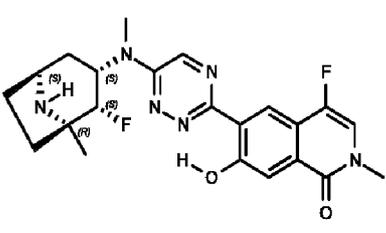
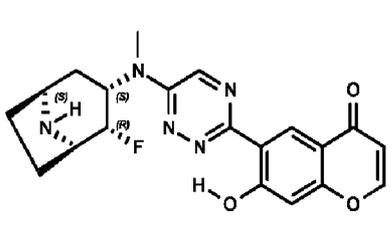
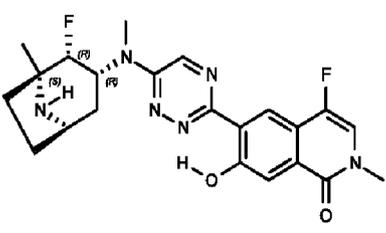
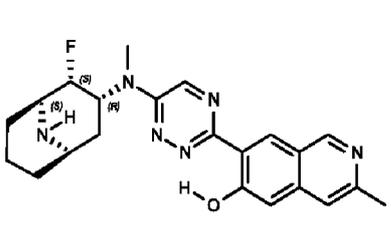
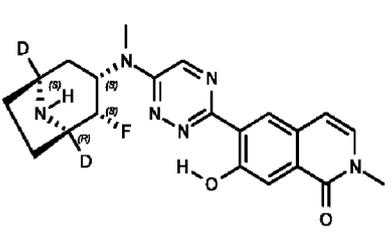
54		166	
55		167	
56		168	
57		169	

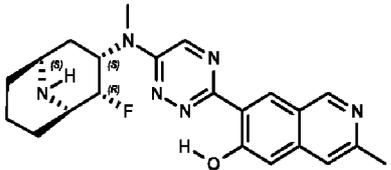
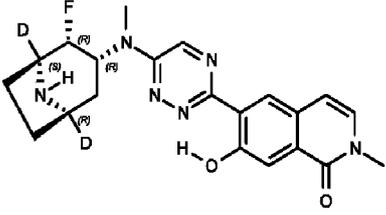
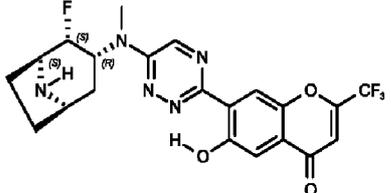
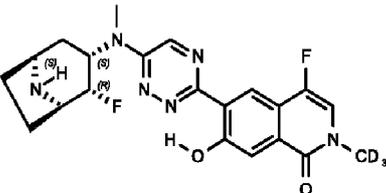
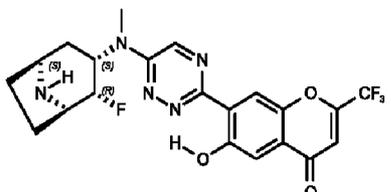
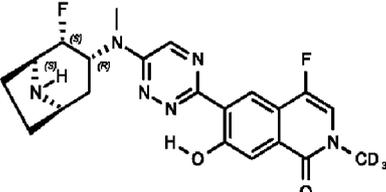
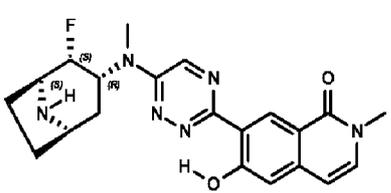
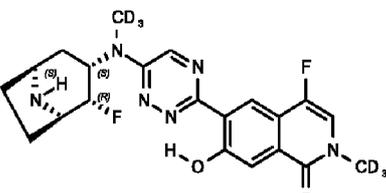
58		170	
59		171	
60		172	
61		173	

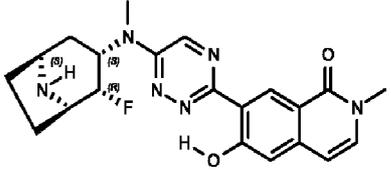
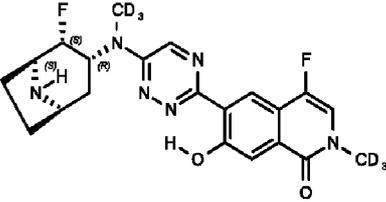
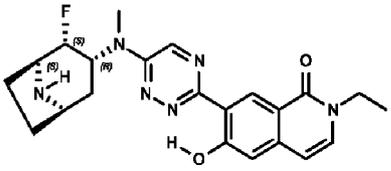
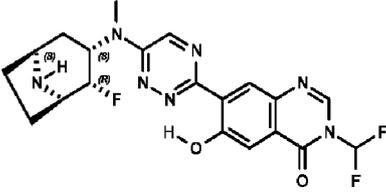
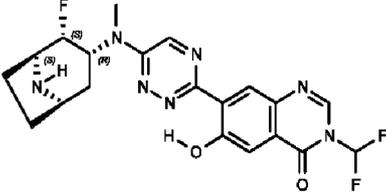
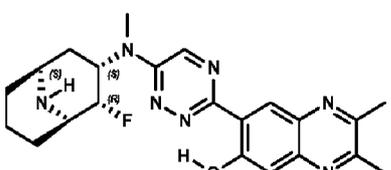
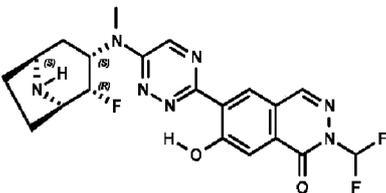
62		174	
63		175	
64		176	
65		177	

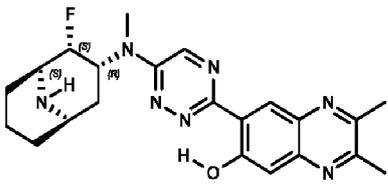
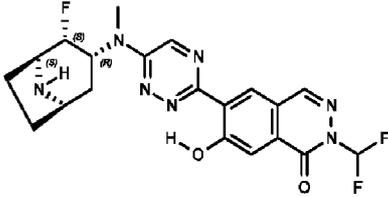
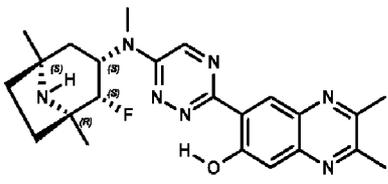
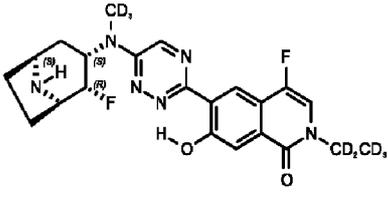
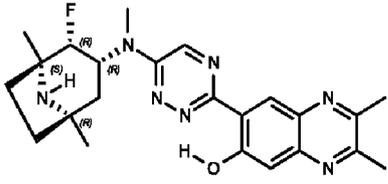
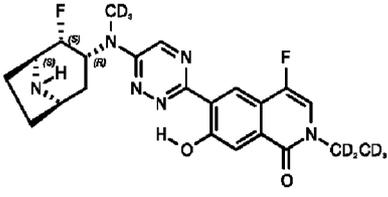
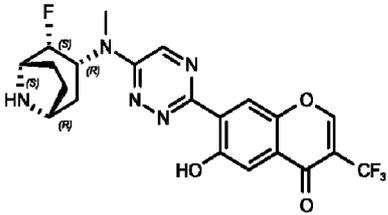
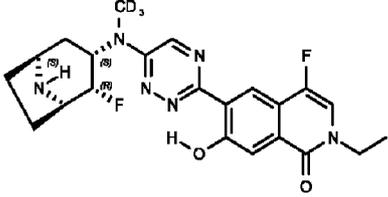
66		178	
67		179	
68		180	
69		181	

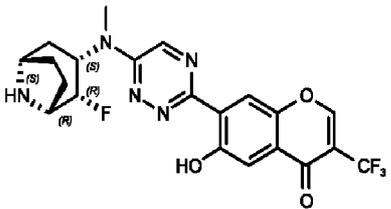
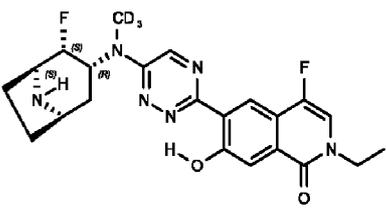
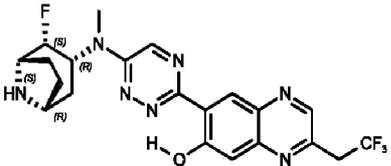
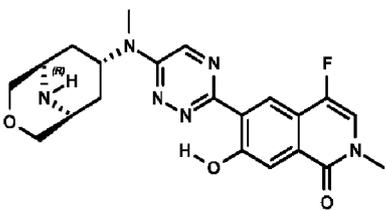
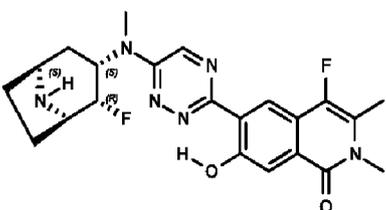
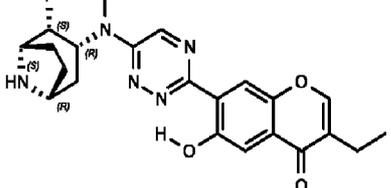
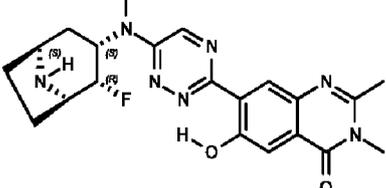
70		182	
71		183	
72		184	
73		185	

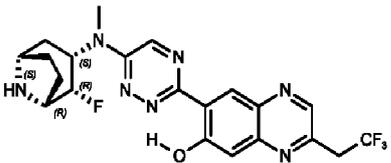
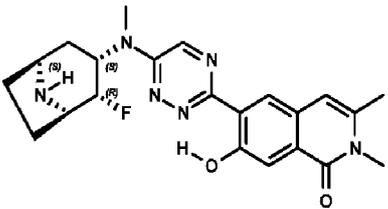
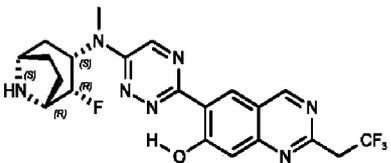
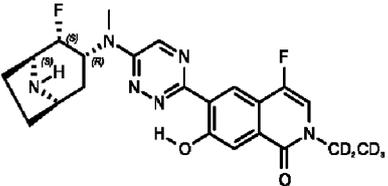
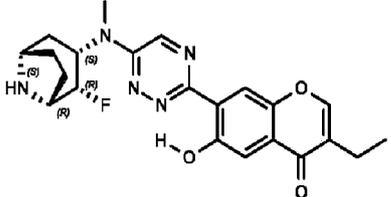
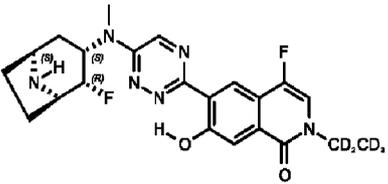
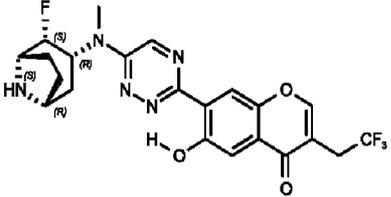
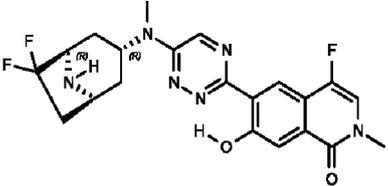
74		186	
75		187	
76		188	
77		189	

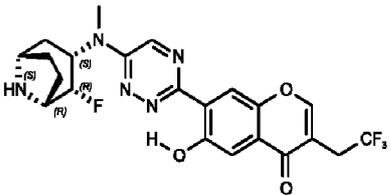
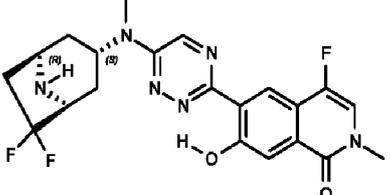
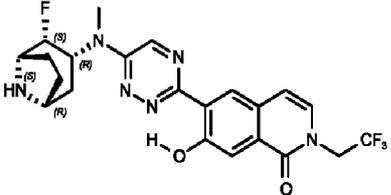
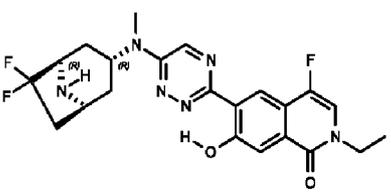
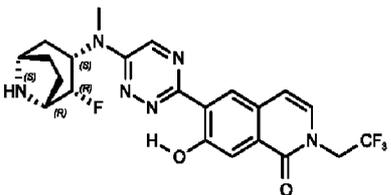
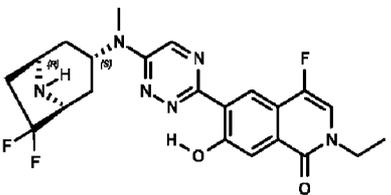
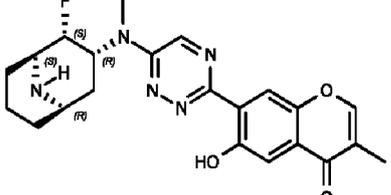
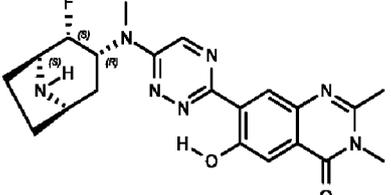
78		190	
79		191	
80		192	
81		193	

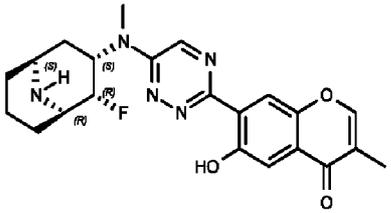
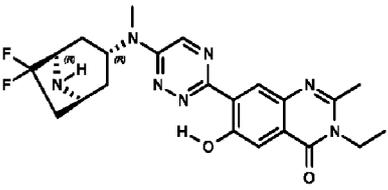
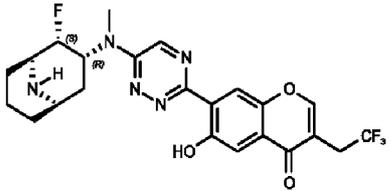
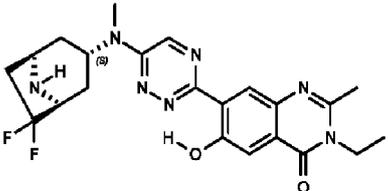
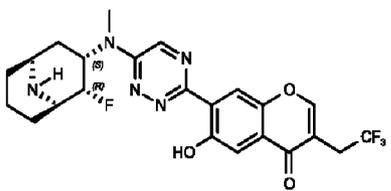
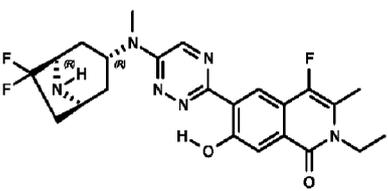
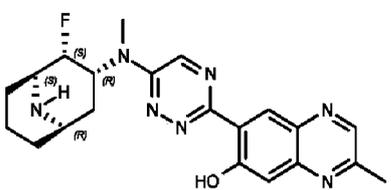
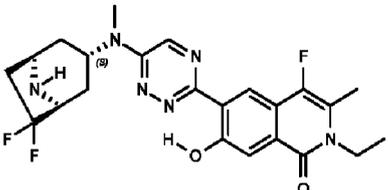
82		194	
83		195	
84		196	
85		197	

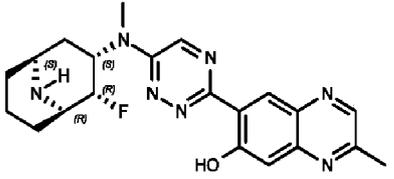
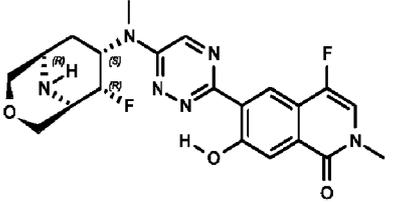
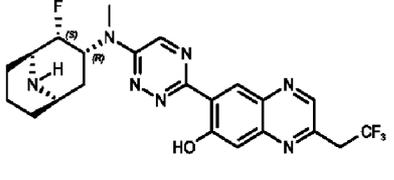
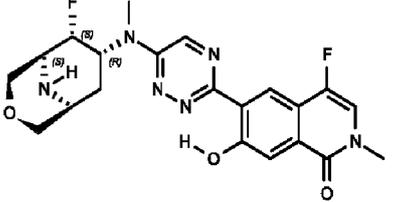
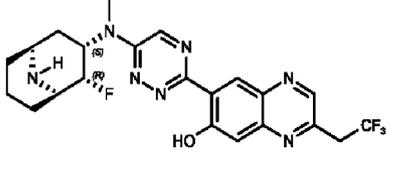
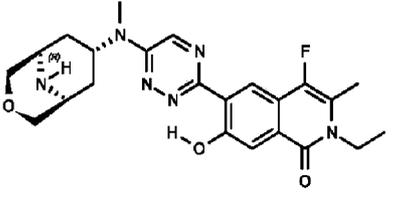
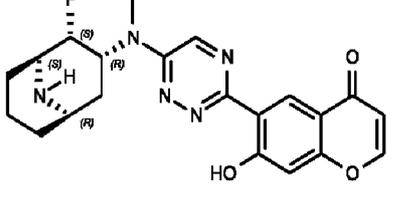
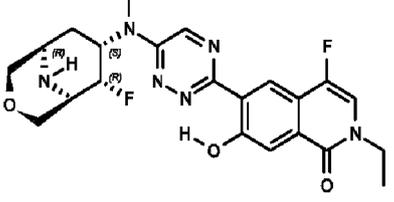
86		198	
87		199	
88		200	
89		201	

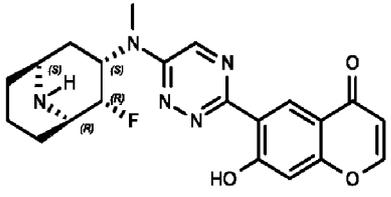
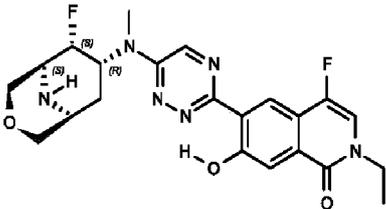
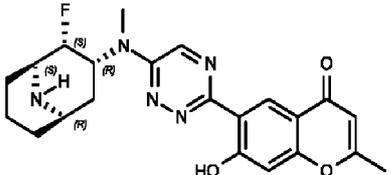
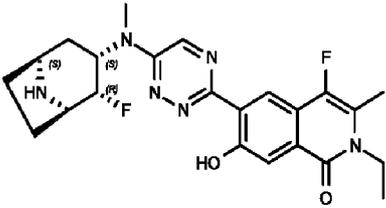
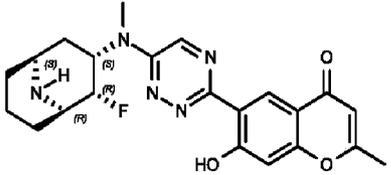
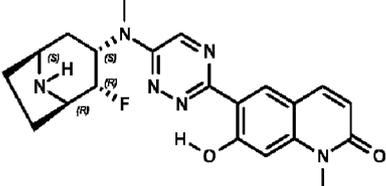
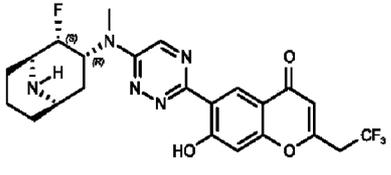
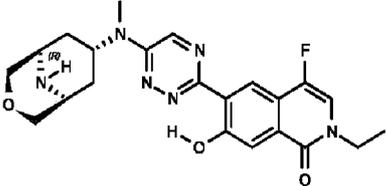
90		202	
91		203	
92		204	
93		205	

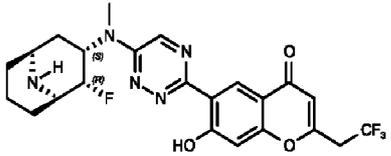
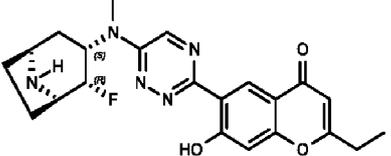
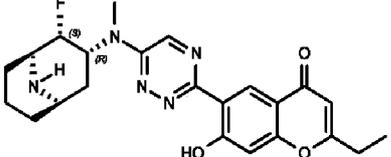
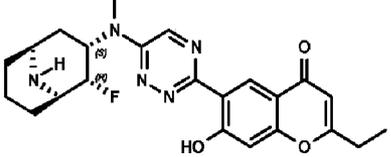
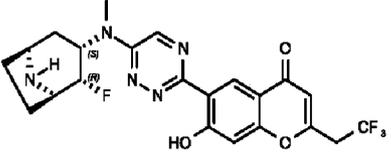
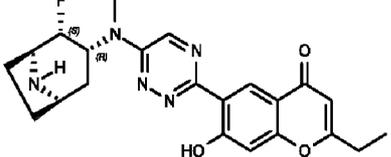
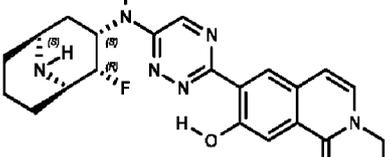
94		206	
95		207	
96		208	
97		209	

98		210	
99		211	
100		212	
101		213	

102		214	
103		215	
104		216	
105		217	

106		218	
107		219	
108		220	
109		221	

110		222	
111		223	
112		224	
113		225	

114		118	
115		119	
116		120	
117		121	

[0133] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыты фармацевтически приемлемая соль или фармацевтически приемлемый сольват соединения, представляющего собой SMSM, из **таблицы 1** или **таблицы 2**.

#### **Фармацевтические композиции**

[0134] В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, составлены в виде фармацевтических композиций. Фармацевтические композиции составляют традиционным способом с применением одного или более фармацевтически приемлемых неактивных ингредиентов, которые облегчают обработку активных соединений в препараты, которые могут использоваться фармацевтически. Подходящий состав зависит от выбранного пути введения. Сводные данные по фармацевтическим композициям, описанным в данном документе, можно найти, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, девятнадцатое изд. (Easton, Pa.: Mack

Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; и Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, седьмое изд. (Lippincott Williams & Wilkins 1999), которые включены в данный документ посредством ссылки для такого раскрытия.

[0135] Фармацевтическая композиция может представлять собой смесь SMSM, описанной в данном документе, с одним или более другими химическими компонентами (т. е. фармацевтически приемлемыми ингредиентами), такими как носители, вспомогательные вещества, связующие, наполнители, суспендирующие средства, вкусоароматические средства, подсластители, разрыхлители, диспергирующие средства, поверхностно-активные вещества, смазывающие средства, красящие вещества, разбавители, солюбилизаторы, увлажняющие средства, пластификаторы, стабилизаторы, вещества, способствующие проникновению, смачивающие средства, пеногасители, антиоксиданты, консерванты или их одна или более комбинаций. Фармацевтическая композиция облегчает введение соединения в организм.

[0136] Композиции, описанные в данном документе, могут быть введены субъекту разнообразными способами, в том числе парентерально, внутривенно, внутрикожно, внутримышечно, в толстую кишку, ректально или внутривентриально. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный модулятор сплайсинга или его фармацевтически приемлемую соль вводят путем внутривентриальной инъекции, внутримышечной инъекции, подкожной инъекции или внутривенной инъекции субъекту. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции могут быть введены парентерально, внутривенно, внутримышечно или перорально. Пероральные средства, содержащие низкомолекулярный модулятор сплайсинга, могут находиться в любой подходящей форме для перорального введения, как, например, в виде жидкости, таблеток, капсул или т. п. Составы для перорального применения могут быть дополнительно покрыты оболочкой или обработаны для предупреждения или уменьшения растворения в желудке. Композиции по настоящему изобретению могут быть введены субъекту с применением любых подходящих способов, известных в уровне техники. Подходящие составы для применения в настоящем изобретении и способы доставки в общем хорошо известны в уровне техники. Например, низкомолекулярные модуляторы сплайсинга, описанные в данном документе, могут быть составлены в виде фармацевтических композиций с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или вспомогательным веществом. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные средства, необходимые для приближения к физиологическим условиям, в том числе средства, регулирующие pH, и буферные средства, средства, регулирующие тоничность, смачивающие средства и т. п., такие как, например, ацетат натрия, лактат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, сорбитанмонолаурат, олеат триэтаноламина и т. д.

[0137] Фармацевтические составы, описанные в данном документе, могут быть введены субъекту разнообразными способами с помощью нескольких путей введения,

включая без ограничения пероральный, парентеральный (*например*, внутривенные, подкожные, внутримышечные, интрамедуллярные инъекции, интратекальные, прямые интравентрикулярные, внутривентрикулярные, внутривентрикулярные, внутривентрикулярные, интраназальные инъекции), интраназальный, трансбуккальный, местный или трансдермальный пути введения. Фармацевтические составы, описанные в данном документе, включают без ограничения водные жидкие дисперсии, самоэмульгирующиеся дисперсии, твердые растворы, липосомальные дисперсии, аэрозоли, твердые лекарственные формы, порошки, составы с немедленным высвобождением, составы с контролируемым высвобождением, быстрорастворимые составы, таблетки, капсулы, пилюли, составы с отсроченным высвобождением, составы с пролонгированным высвобождением, составы с пульсирующим высвобождением, составы в виде множества частиц и смешанные составы с немедленным и контролируемым высвобождением.

[0138] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав находится в форме таблетки. В других вариантах осуществления фармацевтические составы, содержащие SMSM, описанные в данном документе, находятся в форме капсулы. В одном аспекте жидкие лекарственные формы состава для перорального введения находятся в форме водной суспензии или растворов, выбранных из группы, включающей без ограничения водные пероральные дисперсии, эмульсии, растворы, настойки, гели и сиропы.

[0139] Для введения путем ингаляции SMSM, описанный в данном документе, может быть составлен для применения в виде аэрозоля, тумана или порошка. Для трансбуккального или сублингвального введения композициям могут придавать форму таблеток, пастилок для рассасывания или гелей, составленных традиционным способом. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, может быть получен в виде трансдермальных лекарственных форм. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, может быть включен в состав фармацевтической композиции, подходящей для внутримышечной, подкожной или внутривенной инъекции. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, может быть введен местно и может быть включен в состав разнообразных композиций для местного введения, таких как растворы, суспензии, лосьоны, гели, пасты, лекарственные стики, бальзамы, кремы или мази. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, может быть включен в состав ректальных композиций, таких как клизмы, ректальные гели, ректальные пены, ректальные аэрозоли, суппозитории, желеобразные суппозитории или удерживающие клизмы.

### **Модуляция сплайсинга**

[0140] В настоящем изобретении рассматривается применение малых молекул с благоприятными свойствами лекарственного средства, которые модулируют активность сплайсинга РНК-мишени. В данном документе предусмотрены низкомолекулярные модуляторы сплайсинга (SMSM), которые модулируют сплайсинг полинуклеотида-

мишени. В некоторых вариантах осуществления SMSM связывают и модулируют РНК-мишень. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлена библиотека SMSM, которые связывают и модулируют одну или более РНК-мишеней. В некоторых вариантах осуществления РНК-мишень представляет собой мРНК. В некоторых вариантах осуществления РНК-мишень представляет собой мРНК, некодирующую РНК. В некоторых вариантах осуществления РНК-мишень представляет собой pre-mRNA. В некоторых вариантах осуществления РНК-мишень представляет собой hnRNA. В некоторых вариантах осуществления малые молекулы модулируют сплайсинг РНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления малая молекула, предусмотренная в данном документе, модулирует сплайсинг в последовательности РНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления малая молекула, предусмотренная в данном документе, модулирует сплайсинг в криптоическом сайте сплайсинга последовательности РНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления малая молекула, предусмотренная в данном документе, связывается с РНК-мишенью. В некоторых вариантах осуществления малая молекула, предусмотренная в данном документе, связывается с компонентом комплекса сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления малая молекула, предусмотренная в данном документе, связывается с РНК-мишенью и компонентом комплекса сплайсинга.

[0141] Таким образом, в данном документе предусмотрены способы предупреждения или индуцирования события сплайсинга в молекуле pre-mRNA, включающие приведение в контакт молекулы pre-mRNA и/или других элементов сплайсингового механизма (*например*, внутри клетки) с соединением, предусмотренным в данном документе, для предупреждения или индуцирования события сплайсинга в молекуле pre-mRNA. Событие сплайсинга, которое предупреждается или индуцируется может быть, *например*, событием aberrантного сплайсинга, событием конститутивного сплайсинга или событием альтернативного сплайсинга.

[0142] Дополнительно в данном документе представлен способ идентификации соединения, способного к предупреждению или индуцированию события сплайсинга в молекуле pre-mRNA, включающий приведение в контакт соединения с элементами сплайсинга и/или факторами, вовлеченными в альтернативный, aberrантный и/или конститутивный сплайсинг, как описано в данном документе (*например*, внутри клеток) в условиях, при которых возникает и обнаруживается положительный (предупреждение или индуцирование сплайсинга) или отрицательный (отсутствие предупреждения или индуцирования сплайсинга) эффект, и идентификацию соединения, оказывающего положительный эффект, в качестве соединения, способного предупреждать или индуцировать событие сплайсинга.

[0143] В некоторых вариантах осуществления описанное в данном документе низкомолекулярное соединение в фармацевтически приемлемом носителе предупреждает или индуцирует событие альтернативного или aberrантного сплайсинга в молекуле pre-mRNA. Как указано выше, низкомолекулярные соединения, предусмотренные в данном

документе, не являются антисмысловыми или антигенными олигонуклеотидами.

[0144] В некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта с заболеванием или состоянием включает введение соединения, представляющего собой низкомолекулярный модулятор сплайсинга (SMSM), субъекту с заболеванием или состоянием. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления млекопитающее представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой pre-mRNA. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительной терапевтической молекулы субъекту. В некоторых вариантах осуществления SMSM представляет собой соединение, описанное в данном документе.

[0145] Соединения и составы, описанные в данном документе, также применимы в виде терапевтических средств при лечении заболевания, в развитии которого вовлечен aberrantный и/или альтернативный сплайсинг. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способ лечения субъекта, у которого имеется состояние или нарушение, ассоциированные с событием альтернативного или aberrantного сплайсинга в молекуле pre-mRNA, включает введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе, для модулирования события альтернативного сплайсинга или предупреждения события aberrantного сплайсинга с обеспечением таким образом лечения субъекта. Способ может, *например*, обеспечить восстановление события правильного сплайсинга в молекуле pre-mRNA. В способе можно, *например*, использовать низкомолекулярное соединение, описанное в данном документе, в фармацевтически приемлемом носителе.

[0146] Составы, содержащие малые молекулы, описанные в данном документе, могут содержать физиологически или фармацевтически приемлемый носитель, такой как водный носитель. Таким образом, составы для применения в способах, описанных в данном документе, включают без ограничения составы, подходящие для перорального введения, парентерального введения, в том числе подкожного, внутрикожного, внутримышечного, внутривенного и внутриартериального введения, а также местного введения (*например*, введения состава частиц, размер которых позволяет достигать альвеол, в виде аэрозоля в легкие пациента, страдающего муковисцидозом или раком легких, или состава в виде крема или лосьона для трансдермального введения пациентам с псориазом). Для удобства составы могут быть представлены в виде стандартной лекарственной формы и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в уровне техники. Наиболее подходящий путь введения в каждом конкретном случае может зависеть от субъекта, природы и тяжести состояния, в отношении которого осуществляют лечение, и конкретного активного соединения, которое применяют, что может быть легко определено специалистом в данной области техники.

[0147] Также в данном документе предусмотрены способы для применения соединения, описанного в данном документе, обладающего характеристиками, изложенными выше, для получения лекарственного препарата для усиления или

подавления экспрессии РНК у пациента, у которого имеется нарушение, ассоциированное с аберрантным или альтернативным сплайсингом молекулы pre-mRNA, как обсуждалось выше. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат усиливает экспрессию генов. В других вариантах осуществления лекарственный препарат подавляет экспрессию генов. При изготовлении лекарственного препарата в соответствии с настоящим изобретением, соединение можно смешивать, среди прочего, с фармацевтически приемлемым носителем. Носитель может представлять собой твердое вещество или жидкость. Одно или более соединений могут быть включены в любой комбинации в составы, описанные в данном документе, которые могут быть получены посредством любой из методик, хорошо известных в области фармацевтики, таких как смешивание компонентов и/или включение одного или более дополнительных терапевтических ингредиентов.

[0148] В настоящем изобретении идентифицированы низкомолекулярные соединения (иногда называемые в данном документе малыми молекулами), которые блокируют сплайсинг мРНК и/или усиливают (облегчают, увеличивают) сплайсинг мРНК. Сплайсинг, который можно регулировать способами, описанными в данном документе, включает альтернативный сплайсинг, *например* сплайсинг, обеспечивающий пропуск экзона, сохранение интрона, пропуск ложного экзона, исключение экзона, частичное исключение интрона, и другие. В зависимости от факторов, таких как последовательность сплайсинга и вовлеченные РНК (или ген, кодирующий РНК) или экзон, модуляция сплайсинга может осуществляться в присутствии или в отсутствие антисмысловых олигонуклеотидов (АО), которые специфичны для последовательностей сплайсинга, представляющих интерес. В некоторых вариантах осуществления малая молекула и АО действуют синергически.

[0149] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, страдающего заболеванием или состоянием, ассоциированными с аберрантным сплайсингом pre-mRNA. Способ может включать введение SMSM или композиции, содержащей SMSM, субъекту, где SMSM связывается с pre-mRNA или компонентом комплекса сплайсинга и модулирует сплайсинг pre-mRNA с обеспечением ингибирования экспрессии одной или более изоформ транскрипта. Способ может включать введение SMSM или композиции, содержащей SMSM, субъекту, где SMSM связывается с pre-mRNA или компонентом комплекса сплайсинга и модулирует сплайсинг pre-mRNA с обеспечением повышения экспрессии одной или более изоформ транскрипта.

[0150] Некоторые заболевания ассоциированы с экспрессией аберрантного генного продукта (*например*, транскрипта РНК или белка) гена. Например, аберрантные количества транскрипта РНК могут привести к развитию заболевания вследствие соответствующих изменений в экспрессии белка. Изменения в количестве конкретного транскрипта РНК могут возникать в результате нескольких факторов. Во-первых, изменения количества транскриптов РНК могут быть обусловлены аберрантным уровнем транскрипции

конкретного гена, например, за счет нарушения транскрипционного фактора или части процесса транскрипции, что приводит к изменению уровня экспрессии конкретного транскрипта РНК. Во-вторых, изменения в сплайсинге конкретных транскриптов РНК, например, за счет нарушения конкретного процесса сплайсинга или мутаций в гене, которые приводят к модифицированному сплайсингу, могут обеспечивать изменение уровней конкретного транскрипта РНК. Изменения стабильности конкретного транскрипта РНК или компонентов, которые поддерживают стабильность транскрипта РНК, таких как процесс включения поли-А-хвоста или эффект в отношении некоторых факторов или белков, которые связываются с транскриптами РНК и стабилизируют их, могут привести к изменениям уровней конкретного транскрипта РНК. Уровень трансляции конкретных транскриптов РНК может также влиять на количество этих транскриптов, влияя на процессы распада транскрипта РНК или усиливая их. Наконец, aberrantный транспорт РНК или секвестрация РНК могут также привести к изменениям функциональных уровней транскриптов РНК, и могут оказывать эффект в отношении стабильности, дополнительного процессинга или трансляции транскриптов РНК.

[0151] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы модуляции количества одного, двух, трех или больше транскриптов РНК, кодируемых pre-mRNA, включающие приведение в контакт клетки с соединением, представляющим собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой солью. В некоторых вариантах осуществления клетку приводят в контакт с соединением, представляющим собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой солью в культуре клеток. В других вариантах осуществления клетку приводят в контакт с соединением, представляющим собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой солью в организме субъекта (*например*, субъекта-животного, отличного от человека, или субъекта-человека).

[0152] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения, предупреждения и/или задержки прогрессирования заболевания или состояния, включающие введение эффективного количества низкомолекулярного модулятора сплайсинга, как описано в данном документе, субъекту, в частности млекопитающему.

[0153] В некоторых вариантах осуществления связывание соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли с pre-mRNA предупреждает сплайсинг одного или более экзонов и/или интронов и/или их белков, из популяции pre-mRNA с получением мРНК, кодирующей целевой белок или функциональную РНК. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит популяцию pre-mRNA, транскрибируемую из гена, кодирующего целевой белок или функциональную РНК, где популяция pre-mRNA содержит мутацию, которая обуславливает удаление путем сплайсинга одного или более экзонов, и где соединение, представляющее собой SMSM, или его фармацевтически приемлемая соль связывается с мутацией, которая обуславливает удаление путем сплайсинга одного или более экзонов в популяции pre-mRNA. В некоторых вариантах осуществления связывание соединения, представляющего собой SMSM, или его

фармацевтически приемлемой соли с мутацией, которая обуславливает сплайсинг одного или более экзонов, предупреждает сплайсинг одного или более экзонов из популяции pre-mRNA для получения мРНК кодирующей целевой белок или функциональную РНК. В некоторых вариантах осуществления состояние представляет собой заболевание или нарушение. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает оценку экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления соединение, представляющее собой SMSM, или его фармацевтически приемлемая соль связываются с целевой частью pre-mRNA.

[0154] В некоторых вариантах осуществления связывание соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли катализирует включение недостающего экзона или удаление нежелательного оставшегося интрона или их частей, что приводит к образованию здоровых мРНК и белков. В некоторых вариантах осуществления связывание соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли оказывает минимальный эффект в отношении клеток, не пораженных заболеванием, или не оказывает никакого эффекта в отношении таковых.

#### **Мишени SMSM**

[0155] Аберрантный сплайсинг мРНК, например pre-mRNA, может привести к образованию дефектного белка и может обуславливать возникновение заболевания или нарушения у субъекта. Композиции и способы, описанные в данном документе, могут обеспечивать уменьшение уровня такого аберрантного сплайсинга мРНК, например pre-mRNA, и лечение заболевания или нарушения, обусловленных таким аберрантным сплайсингом.

[0156] Заболевания, ассоциированные с изменениями количества транскрипта РНК часто лечат, уделяя основное внимание аберрантной экспрессии белка. Однако, если процессы, ответственные за аберрантные изменения уровней РНК, такие как компоненты процесса сплайсинга или ассоциированные с ними факторы транскрипции или ассоциированные с ними факторы стабильности, могут быть мишенью для лечения с помощью малой молекулы, то можно будет восстановить уровни экспрессии белка таким образом, чтобы устранить нежелательные эффекты экспрессии аберрантных уровней транскриптов РНК или ассоциированных с ними белков. Следовательно, существует необходимость в способах модулирования количества транскриптов РНК, кодируемых некоторыми генами, в качестве способа для предупреждения или лечения заболеваний, ассоциированных с аберрантной экспрессией транскриптов РНК или ассоциированных с ними белков.

#### **Способы лечения**

[0157] Композиции и способы, описанные в данном документе, могут использоваться для лечения заболевания или нарушения у человека, ассоциированных с аберрантным сплайсингом, таким как аберрантный сплайсинг pre-mRNA. Композиции и способы, описанные в данном документе, могут использоваться для лечения заболевание или нарушения у человека посредством модулирования мРНК, такой как pre-mRNA. В

некоторых вариантах осуществления композиции и способы, описанные в данном документе, могут использоваться для лечения заболевания или нарушения у человека посредством модулирования сплайсинга нуклеиновой кислоты, даже если эта нуклеиновая кислота не подвергается аберрантному сплайсингу в патогенезе заболевания или нарушения, в отношении которых осуществляют лечение.

[0158] В некоторых вариантах осуществления эффективное количество в контексте введения соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции или лекарственного препарата на их основе относится к количеству соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли для пациента, которое обладает терапевтическим эффектом и/или благоприятным эффектом. В определенных конкретных вариантах осуществления эффективное количество в контексте введения соединения, представляющее собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции или лекарственного препарата на его основе пациенту приводит к одному, двум или более из следующих эффектов: (i) уменьшает или облегчает тяжесть заболевания; (ii) задерживает начало заболевания; (iii) ингибирует прогрессирование заболевания; (iv) уменьшает госпитализацию субъекта; (v) уменьшает продолжительность госпитализации субъекта; (vi) увеличивает выживаемость субъекта; (vii) улучшает качество жизни субъекта; (viii) уменьшает количество симптомов, ассоциированных с заболеванием; (ix) уменьшает или облегчает тяжесть симптома, ассоциированного с заболеванием; (x) уменьшает продолжительность симптома, ассоциированного с заболеванием; (xi) предупреждает рецидив симптома, ассоциированного с заболеванием; (xii) ингибирует развитие или начало симптома заболевания; и/или (xiii) ингибирует прогрессирование симптома, ассоциированного с заболеванием. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для восстановления количества транскрипта РНК гена до количества транскрипта РНК, выявляемого у здоровых пациентов или в клетках здоровых пациентов. В других вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой количество, эффективное для восстановления количества изоформы РНК и/или изоформы белка гена до количества изоформы РНК и/или изоформы белка, выявляемых у здоровых пациентов или в клетках здоровых пациентов.

[0159] В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для уменьшения аберрантного количества транскрипта РНК гена, которое ассоциировано с заболеванием. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для уменьшения количества аберрантной экспрессии изоформы гена. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или

его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для того, чтобы привести к существенному изменению количества транскрипта РНК (*например*, транскрипта мРНК), альтернативного сплайс-варианта или изоформы.

[0160] В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для увеличения или уменьшения количества транскрипта РНК (*например*, транскрипта мРНК) гена, которое является благоприятным для предупреждения и/или лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для увеличения или уменьшения количества альтернативного сплайс-варианта транскрипта РНК гена, которое является благоприятным для предупреждения и/или лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения, представляющего собой SMSM, или его фармацевтически приемлемой соли представляет собой количество, эффективное для увеличения или уменьшения количества изоформы гена, которое является благоприятным для предупреждения и/или лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления ген представляет собой SMN2. В некоторых вариантах осуществления модуляция сплайсинга полинуклеотида предусматривает ингибирование пропуска экзона 7. В некоторых вариантах осуществления соединения, представляющие собой SMSM, и способы их применения, описанные в данном документе, могут модулировать сплайсинг pre-mRNA SMN2. Например, соединения, представляющие собой SMSM, и способы их применения, описанные в данном документе, могут модулировать сплайсинг экзона 7 pre-mRNA SMN2. В некоторых вариантах осуществления раскрыты соединения, представляющие собой SMSM, и способы модулирования сплайсинга полинуклеотида посредством последовательности сплайсинга и лечения заболеваний, раскрытых в таблице 3.

Таблица 3

Ген	Заболевания	Последовательность сайта сплайсинга	Описание	Экзон
SMN2	Спинальная мышечная атрофия	GGAguaagu	IVS7+6C>U Мутация, индуцирующая потерю аффинности U1 snRNA	7

[0161] В одном варианте осуществления SMSM, описанный в данном документе, может использоваться в получении лекарственных препаратов для лечения заболеваний или состояний, описанных в данном документе. Кроме того, способ лечения любого из заболеваний или состояний, описанных в данном документе, у субъекта, нуждающегося в таком лечении, может включать введение фармацевтических композиций, которые содержат по меньшей мере один SMSM, описанный в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль в терапевтически эффективном количестве, субъекту.

[0162] В определенных вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, может вводиться для профилактического и/или терапевтического видов лечения. В определенных вариантах терапевтического применения композиции вводят пациенту, уже страдающему от заболевания или состояния, в количестве, достаточном для излечения или по меньшей мере частичного подавления по меньшей мере одного из симптомов заболевания или состояния. Количества, эффективные для данного применения, зависят от тяжести и течения заболевания или состояния, предыдущей терапии, статуса здоровья пациента, веса и ответа на лекарственные средства, а также решения лечащего врача. Терапевтически эффективные количества необязательно определены способами, включая без ограничения клиническое испытание с повышением дозы. В вариантах профилактического применения композиции, содержащие SMSM, описанный в данном документе, можно вводить пациенту, предрасположенному к определенному заболеванию, нарушению или состоянию, или иным образом подвергающемуся риску развития таковых. В определенных вариантах осуществления может быть временно снижена вводимая доза лекарственного средства или временно приостановлено ее введение на определенный период времени (*т. е.* «отдых от лекарственного средства»). Дозы, используемые для лечения взрослого человека, как правило находятся в диапазоне от 0,01 мг до 5000 мг в день или от приблизительно 1 мг до приблизительно 1000 мг в день. В некоторых вариантах осуществления необходимая доза для удобства представлена в виде однократной дозы или в виде разделенных доз.

[0163] Для комбинированных видов терапии, описанных в данном документе, дозировки совместно вводимых соединений могут варьировать в зависимости от типа используемого совместно вводимого лекарственного средства(средств), от конкретного используемого лекарственного средства(средств), от заболевания или состояния, в отношении которых осуществляют лечение, и т. д. В дополнительных вариантах осуществления при совместном введении с одним или более другими терапевтическими средствами соединение, предусмотренное в данном документе, вводят либо одновременно с одним или более другими терапевтическими средствами, либо последовательно. Если введение является одновременным, несколько терапевтических средств могут быть предоставлены, только в качестве примера, в виде единой объединенной формы или в виде нескольких форм.

#### ***Способы введения***

[0164] Композиции, описанные в данном документе, могут быть введены субъекту разнообразными способами, в том числе парентерально, внутривенно, внутривожно, внутримышечно, в толстую кишку, ректально или внутрибрюшинно. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный модулятор сплайсинга или его фармацевтически приемлемую соль вводят путем внутрибрюшинной инъекции, внутримышечной инъекции, подкожной инъекции или внутривенной инъекции субъекту. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции могут быть введены парентерально, внутривенно, внутримышечно или перорально. Пероральные средства,

содержащие низкомолекулярный модулятор сплайсинга, могут находиться в любой подходящей форме для перорального введения, как, например, в виде жидкости, таблеток, капсул или т. п. Составы для перорального применения могут быть дополнительно покрыты оболочкой или обработаны для предупреждения или уменьшения растворения в желудке. Композиции по настоящему изобретению могут быть введены субъекту с применением любых подходящих способов, известных в уровне техники. Подходящие составы для применения в настоящем изобретении и способы доставки в общем хорошо известны в уровне техники. Например, низкомолекулярные модуляторы сплайсинга, описанные в данном документе, могут быть составлены в виде фармацевтических композиций с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или вспомогательным веществом. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные средства, необходимые для приближения к физиологическим условиям, в том числе средства, регулирующие pH, и буферные средства, средства, регулирующие тоничность, смачивающие средства и т. п., такие как, например, ацетат натрия, лактат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, сорбитанмонолаурат, олеат триэтаноламина и т. д.

[0165] Фармацевтические составы, описанные в данном документе, могут быть введены субъекту разнообразными способами с помощью нескольких путей введения, включая без ограничения пероральный, парентеральный (*например*, внутривенные, подкожные, внутримышечные, интрамедуллярные инъекции, интратекальные, прямые интравентрикулярные, внутрибрюшинные, внутрилимфатические, интраназальные инъекции), интраназальный, трансбуккальный, местный или трансдермальный пути введения. Фармацевтические составы, описанные в данном документе, включают без ограничения водные жидкие дисперсии, самоэмульгирующиеся дисперсии, твердые растворы, липосомальные дисперсии, аэрозоли, твердые лекарственные формы, порошки, составы с немедленным высвобождением, составы с контролируемым высвобождением, быстрорастворимые составы, таблетки, капсулы, пилюли, составы с отсроченным высвобождением, составы с пролонгированным высвобождением, составы с пульсирующим высвобождением, составы в виде множества частиц и смешанные составы с немедленным и контролируемым высвобождением.

[0166] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, вводятся перорально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, вводятся местно. В таких вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, включены в состав разнообразных композиций для местного введения, таких как растворы, суспензии, лосьоны, гели, пасты, шампуни, скрабы, средства для растирания, средства для смазывания, лекарственные стики, лекарственные повязки, бальзамы, кремы или мази. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, вводятся местно на кожу. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, вводятся путем ингаляции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические

композиции, описанные в данном документе, составлены для интраназального введения. Такие составы включают назальные спреи, назальные аэрозоли и т. п. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, составлены в виде глазных капель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе: (a) вводятся млекопитающему системно; и/или (b) вводятся млекопитающему перорально; и/или (c) вводятся млекопитающему внутривенно; и/или (d) вводятся млекопитающему посредством ингаляции; и/или (e) вводятся млекопитающему путем назального введения; или и/или (f) вводятся млекопитающему путем инъекции; и/или (g) вводятся млекопитающему местно; и/или (h) вводятся путем офтальмологического введения; и/или (i) вводятся млекопитающему ректально; и/или (j) вводятся млекопитающему не системно или локально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в данном документе, вводятся млекопитающему перорально. В определенных вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, вводят локальным, а не системным образом. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, вводят местно. В некоторых вариантах осуществления SMSM, описанный в данном документе, вводят системно.

[0167] Композиции для перорального применения как правило содержат инертный разбавитель или пищевой носитель. Они могут быть заключены в желатиновую капсулу или спрессованы в таблетки. В целях перорального терапевтического введения активное соединение может быть объединено с вспомогательными веществами и применяться в форме таблеток, пастилок или капсул. Фармацевтически совместимые средства связывания и/или адьювантные материалы могут быть включены в качестве части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т. п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединений подобного характера: связующее, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; вспомогательное вещество, такое как крахмал или лактоза, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, Primogel или кукурузный крахмал; смазывающее средство, такое как стеарат магния или Sterotes; вещество, способствующее скольжению, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизирующее средство, такое как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

[0168] Для введения посредством ингаляции соединения доставляются в форме спрей-аэрозоля из контейнера под давлением или диспенсера, который содержит подходящий газ-вытеснитель, например газ, такой как диоксид углерода, или распылителя.

[0169] Системное введение может также осуществляться с помощью средств для трансмукозальной или трансдермальной доставки. Для трансмукозального или трансдермального введения в составе используются обеспечивающие проникновение вещества, подходящие для барьера, через который необходимо обеспечить проникновение. Такие обеспечивающие проникновение вещества в общем известны в уровне техники и включают, например, для трансмукозального введения, детергенты, соли желчных кислот

и производные фузидиевой кислоты. Трансмукозальное введение можно осуществлять посредством применения назальных спреев или суппозиторияев. Для трансдермального введения активные соединения включают в состав мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в общем известно в уровне техники.

[0170] SMSM, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы (если они растворимы в воде) или дисперсии и стерильные порошки для получения стерильных инъекционных растворов или дисперсии для немедленного приема. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, Cremophor EL™ (BASF, Парсиппани, Нью-Джерси) или фосфатный буферный солевой раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей до такой степени, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна быть устойчивой в условиях изготовления и хранения и должна быть защищена от загрязнения микроорганизмами, такими как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропилен гликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т. п.) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, посредством применения покрытия, такого как лецитин, поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и применения поверхностно-активных веществ. Предупреждение действия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например парабенов, хлоробутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т. п. Во многих случаях будет предпочтительнее включать в композицию изотонические средства, например сахара, многоатомные спирты, такие как манит, сорбит, хлорид натрия.

#### ***Введение доз и графики***

[0171] SMSM, используемые в способах по настоящему изобретению, могут быть, *например*, введены в дозировках, которые могут варьировать в зависимости от потребностей субъекта, тяжести состояния, в отношении которого осуществляют лечение и/или визуализацию, и/или используемого SMSM. Например, дозировки могут быть определены эмпирически с учетом типа и стадии заболевания, диагностированного у конкретного субъекта, и/или типа метода визуализации, применяемого в сочетании с SMSM. Доза, вводимая субъекту, в контексте настоящего изобретения должна быть достаточной для того, чтобы вызвать благоприятный диагностический или терапевтический ответ у субъекта. Размер дозы также может быть определен с учетом наличия, характера и степени нежелательных побочных эффектов, которые сопровождают введение SMSM определенному субъекту, при наличии таковых.

[0172] Для обеспечения простоты введения и однородности дозировки преимущественным является составление композиции в виде единичной дозированной формы. Единичная дозированная форма, как используется в данном документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве однократных единиц дозировки для субъекта, подлежащего лечению; при этом каждая единица содержит

предварительно определенное количество активного соединения, которое рассчитано таким образом, чтобы обеспечивать получение необходимого терапевтического эффекта, в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем. Свойства единичных дозированных форм по настоящему изобретению диктуются и непосредственно зависят от уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и ограничений, присущих уровню техники составления такого активного соединения для лечения индивидуумов. Токсичность и терапевтическая эффективность таких соединений могут быть определены путем выполнения процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, например, для определения LD<sub>50</sub> (доза, являющаяся летальной для 50% популяции) и ED<sub>50</sub> (доза, являющаяся терапевтически эффективной для 50% популяции). Соотношение доз, вызывающих токсический и терапевтический эффекты, представляет собой терапевтический индекс, и он может быть выражен в виде соотношения LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Соединения, которые демонстрируют большие значения терапевтического индекса, являются предпочтительными. Хотя соединения, демонстрирующие токсичные побочные эффекты, могут применяться, следует позаботиться о разработке системы доставки, которая нацеливает такие соединения к месту пораженной ткани, чтобы минимизировать потенциальное повреждение незараженных клеток и, тем самым, уменьшить побочные эффекты.

[0173] Данные о терапевтическом индексе, полученные из анализов в культуре клеток и/или исследований на животных, могут использоваться для прогнозирования терапевтического индекса *in vivo* и определения диапазона дозировок для применения у субъектов, таких как субъекты-люди. Данные, полученные из анализов в культуре клеток и исследований на животных, могут использоваться для определения диапазона дозировок для применения у людей. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в диапазоне концентраций в циркулирующей крови, который включает ED<sub>50</sub> с небольшой токсичностью или без токсичности. Дозировка может варьировать в данном диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы и применяемого пути введения. Для любого соединения, применяемого в способе по настоящему изобретению, терапевтически эффективная доза может быть изначально оценена на основании анализов в культуре клеток. Доза может быть определена на животных моделях для получения диапазона концентраций в циркулирующей плазме крови, который включает концентрацию исследуемого соединения, при которой достигается полумаксимальное ингибирование симптомов, как определено на культуре клеток. Такая информация может использоваться для более точного определения применимых доз для людей. Уровни в плазме крови могут быть измерены, например, посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. Различные животные модели и клинические анализы для оценки эффективности конкретного SMSM для предупреждения или уменьшения заболевания или состояния, известные в уровне техники, могут применяться в настоящем изобретении. Дозировка может варьировать в данном диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы и применяемого пути введения. Конкретные состав, путь введения и дозировка

могут быть выбраны индивидуально врачом с учетом состояния пациента. (См., например Fingl et al, 1975, в The Pharmacological Basis of Therapeutics. Ch. 1 pi).

[0174] Композиции по настоящему изобретению можно вводить так часто, как это необходимо, в том числе один раз в час, один раз в день, один раз в неделю или один раз в месяц.

[0175] В любом из вышеуказанных аспектов существуют дополнительные варианты осуществления, включающие однократные введения эффективного количества SMSM, описанного в данном документе, включая дополнительные варианты осуществления, в которых (i) соединение вводят один раз; (ii) соединение вводят млекопитающему несколько раз в течение одного дня; (iii) постоянно или (iv) непрерывно.

[0176] В любом из вышеуказанных аспектов существуют дополнительные варианты осуществления, включающие многократные введения эффективного количества SMSM, описанного в данном документе, включая дополнительные варианты осуществления, в которых (i) соединение вводят непрерывно или периодически: в виде однократной дозы; (ii) время между несколькими введениями составляет в каждом случае 6 часов; (iii) соединение вводят млекопитающему один раз 8 часов; (iv) соединение вводят млекопитающему один раз в 12 часов; (v) соединение вводят млекопитающему один раз в 24 часа. В дополнительных или альтернативных вариантах осуществления способ предусматривает «отдых от лекарственного средства», при котором введение SMSM, описанного в данном документе, временно приостанавливают или дозу вводимого соединения временно снижают; по завершению «отдыха от лекарственного средства» введение доз соединения возобновляют. В одном варианте осуществления продолжительность «отдыха от лекарственного средства» находится в диапазоне от 2 дней до 1 года.

#### ***Виды комбинированной терапии***

[0177] В определенных случаях целесообразно вводить по меньшей мере один SMSM, описанный в данном документе, в комбинации с другим терапевтическим средством. Например, соединение SMSM, описанное в данном документе, может быть совместно введено со вторым терапевтическим средством, где SMSM и второе терапевтическое средство модулируют разные аспекты заболевания, нарушения или состояния, в отношении которых осуществляют лечение, тем самым обеспечивая большую общую пользу, чем введение любого терапевтического средства отдельно.

[0178] В некоторых вариантах осуществления SMSM может быть введен в комбинации с одним или более другими SMSM.

[0179] SMSM может быть введен субъекту, нуждающемуся в этом, до, одновременно с или после введения других терапевтических средств. Например, SMSM может быть введен субъекту по меньшей мере за 8 часов, 7 часов, 6 часов, 5 часов, 4 часа, 3 часа, 2 часа, 1,5 часа, 1 час или 30 минут до времени начала введения другого терапевтического средства(средств). В определенных вариантах осуществления они могут быть введены одновременно с введением другого терапевтического средства(средств). Другими словами,

в таких вариантах осуществления SMSM вводят в то же время, когда начинается введение другого терапевтического средства(средств). В других вариантах осуществления SMSM могут быть введены после начала введения другого терапевтического средства(средств) (например, по меньшей мере через 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов или 8 часов после начала введения других терапевтических средств). В качестве альтернативы, SMSM могут быть введены по меньшей мере через 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов или 8 часов после завершения введения других терапевтических средств. В общем, такие SMSM вводят в течение достаточного периода времени, чтобы предупредить заболевание или состояние или уменьшить их выраженность. Такой достаточный период времени может быть идентичен периоду, в течение которого вводят другое терапевтическое средство(средства), или отличаться от него. В определенных вариантах осуществления несколько доз SMSM вводят на каждое введение другого терапевтического средства или комбинации нескольких других терапевтических средств.

[0180] В некоторых вариантах осуществления подходящая дозировка SMSM объединена с конкретным временем и/или конкретным путем для достижения оптимального эффекта в предупреждении заболевания или состояния или уменьшении их выраженности. Например, SMSM может быть введен человеку перорально за или через по меньшей мере 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов или 12 часов; или по меньшей мере 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней; или по меньшей мере 1 неделю, 2 недели, 3 недели или 4 недели; или по меньшей мере 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев или 12 месяцев до или после начала или завершения введения другого терапевтического средства или комбинации других терапевтических средств.

### **Субъекты**

[0181] Субъектами, которых можно лечить с помощью SMSM и способов, описанных в данном документе, может представлять собой любой субъект, у которого продуцируется мРНК, подверженная альтернативному сплайсингу, *например*, субъект может представлять собой субъект, относящийся к эукариотам, такой как растение или животное. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее, *например* человека. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой животное, отличное от человека. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой плод, эмбрион или ребенка. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой примата, отличного от человека, такого как шимпанзе и другие виды человекообразных обезьян и обезьян; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свинья; домашних животных, таких как кролики, собаки и коты; лабораторных животных, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки и т. п. В некоторых вариантах осуществления субъект является пренатальным (*например*, плод), представляет собой ребенка (*например*, новорожденного,

младенца, ребенка ясельного возраста, ребенка младшего школьного возраста), подростка, подростка, достигшего половой зрелости, или взрослого (*например*, взрослого раннего возраста, взрослого среднего возраста, пожилого человека).

### ПРИМЕРЫ

[0182] Такие примеры представлены только для иллюстративных целей, а не для ограничения объема формулы изобретения, представленной в данном документе. Соединения, описанные в данном документе, могут быть синтезированы с применением стандартных методик синтеза или с применением способов, известных в уровне техники, в комбинации со способами, описанными в данном документе. Если не указано иное, могут использоваться общепринятые способы масс-спектрометрии, ЯМР, HPLC, химии белков, биохимии, технологии рекомбинантных ДНК и фармакологии. Соединения могут быть получены с применением стандартных методик органической химии, таких как те, что описаны в, например, *March's Advanced Organic Chemistry*, 6-е издание, John Wiley and Sons, Inc. Для синтетических преобразований, описанных в данном документе, могут использоваться альтернативные условия реакции, такие как варьирование растворителя, температуры реакции, времени реакции, а также разных химических реагентов и других условий реакции. Исходные материалы и реагенты, применяемый для синтеза соединений, описанных в данном документе, могут быть синтезированы или могут быть получены из коммерческих источников, таких как без ограничения Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fluka и Fischer Scientific. Исходные материалы могут быть доступны из коммерческих источников или могут быть легко получены. Исключительно в качестве примера представлены схемы для получения примеров, описанных в данном документе.

[0183] Применяются следующие аббревиатуры: DCM - дихлорметан; DIPEA - N, N-диизопропилэтиламин; DMSO - диметилсульфоксид; DMF - N, N-диметилформамид; EDCI - N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид; Et<sub>2</sub>O - диэтиловый эфир; EtOAc - этилацетат; EtOH - этиловый спирт; HOBT - 1-гидроксibenзотриазол; LCMS - жидкостная хроматография с масс-спектрометрией; MeCN - ацетонитрил; MeOH - метиловый спирт; Ms - мезилат; MTBE - метил-трет-бутиловый эфир; Selectfluor - 1-хлорметил-4-фтор-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан бис(тетрафторборат); SFC - сверхкритическая флюидная хроматография; THF - тетрагидрофуран; TMSCl - триметилсилилхлорид; ч - час; мин - минута; к. т. - комнатная температура (22-25°C); г - граммы; мл - миллилитры; мг - миллиграммы; ммоль - миллимоли.

[0184] Подходящие справочные издания и научные труды, в которых подробно описан синтез реагирующих веществ, применимый для получения соединений, описанных в данном документе, или представлены ссылки на статьи, в которых описано соответствующее получение, включают, например, «*Synthetic Organic Chemistry*», John Wiley & Sons, Inc., New York; S. R. Sandler et al., «*Organic Functional Group Preparations*», 2-е изд., Academic Press, New York, 1983; H. O. House, «*Modern Synthetic Reactions*», 2-е изд., W. A. Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972; T. L. Gilchrist, «*Heterocyclic Chemistry*», 2-е изд., John Wiley & Sons, New York, 1992; J. March, «*Advanced Organic Chemistry: Reactions,*

Mechanisms and Structure», 4th Ed., Wiley Interscience, New York, 1992. Дополнительные подходящие справочные издания и научные труды, в которых подробно описан синтез реагирующих веществ, применимый для получения соединений, описанных в данном документе, или представлены ссылки на статьи, в которых описано соответствующее получение, включают, например, Fuhrhop, J. and Penzlin G. «Organic Synthesis: Concepts, Methods, Starting Materials», второе, редактированное и расширенное издание (1994) John Wiley & Sons ISBN: 3 527-29074-5; Hoffman, R.V. «Organic Chemistry, An Intermediate Text» (1996) Oxford University Press, ISBN 0-19-509618-5; Larock, R. C. «Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations» 2-е издание (1999) Wiley-VCH, ISBN: 0-471-19031-4; March, J. «Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure» 4-е издание (1992) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-60180-2; Otera, J. (редактор) «Modern Carbonyl Chemistry» (2000) Wiley-VCH, ISBN: 3-527-29871-1; Patai, S. «Patai's 1992 Guide to the Chemistry of Functional Groups» (1992) Interscience, ISBN: 0-471-93022-9; Solomons, T. W. G. «Organic Chemistry» 7-е издание (2000) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-19095-0; Stowell, J.C., «Intermediate Organic Chemistry» 2-е издание (1993) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-57456-2; «Industrial Organic Chemicals: Starting Materials and Intermediates: An Ullmann's Encyclopedia» (1999) John Wiley & Sons, ISBN: 3-527-29645-X, в 8 томах; «Organic Reactions» (1942-2000) John Wiley & Sons, в более чем 55 томах; и «Chemistry of Functional Groups» John Wiley & Sons, в 73 томах.

[0185] В описанных реакциях может существовать необходимость защиты реакционноспособных функциональных групп, например гидроксид-, амин-, имино-, тио- или карбокси-групп, где присутствие этих групп необходимо в конечном продукте, чтобы избежать являющегося нежелательным участия этих групп в реакциях. Подробное описание методик, применимых для создания защитных групп и их удаления, описано в Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3-е изд., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999, и Kocienski, Protective Groups, Thieme Verlag, New York, NY, 1994, которые включены в данный документ посредством ссылки для такого раскрытия).

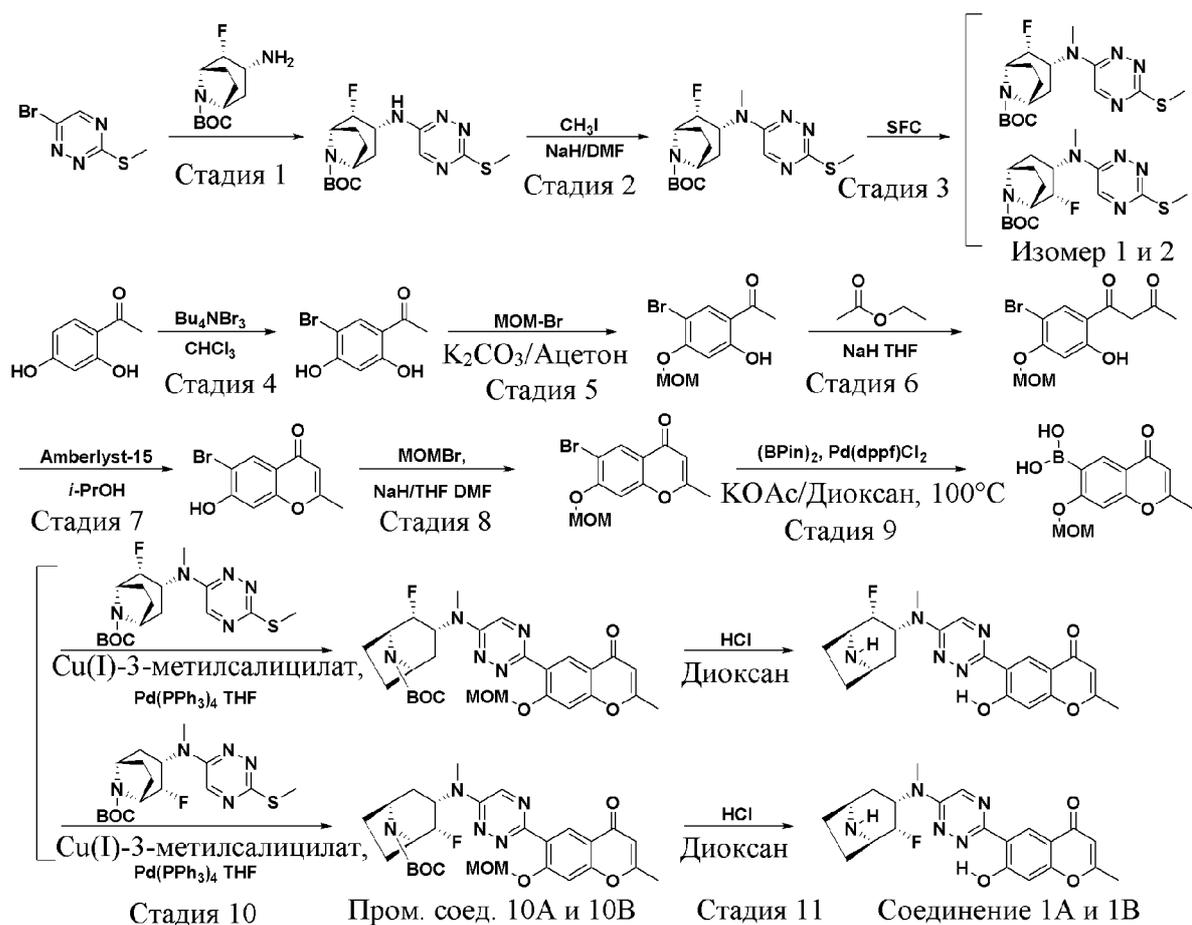
[0186] Примеры могут быть получены с применением известных методик и дополнительно химически модифицированы, в некоторых вариантах осуществления, для обеспечения внутриядерного переноса к, *например*, компоненту комплекса сплайсинга, сплайсосоме или молекуле pre-mRNA. Специалисту в данной области техники известные стандартные подходы медицинской химии, используемые для осуществления химических модификаций, необходимых для обеспечения внутриядерного переноса (*например*, уменьшение заряда, оптимизация размера и/или модификация липофильности).

#### Стереохимия:

[0187] (±) или рацемический указывает на то, что продукт представляет собой рацемическую смесь энантиомеров. Например (±) (1*S*,2*S*,3*R*,5*R*) или рацемический (1*S*,2*S*,3*R*,5*R*) указывает на то, что относительная стереохимия продукта показана исходя из известной стереохимии подобных соединений и/или реакций, и продукт представляет собой рацемическую смесь энантиомеров обоих стереоизомеров (1*S*,2*S*,3*R*,5*R*) и

(1*R*,2*R*,3*S*,5*S*). Соединение, для которого абсолютная стереохимия разделенных энантиомеров не определена, представляют в виде любого из отдельных энантиомеров, например (1*S*,2*S*,3*R*,5*R*) или (1*R*,2*R*,3*S*,5*S*), или изображают в виде одного из возможных отдельных энантиомеров. В таких случаях продукт является чистым и отдельным энантиомером, однако при этом абсолютная стереохимия не идентифицирована, однако при этом относительная стереохимия известна и указана.

[0188] **Пример 1: получение 6-(6-(((1*S*,2*S*,3*R*,5*R*)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метил-4*H*-хромен-4-она и 6-(6-(((1*R*,2*R*,3*S*,5*S*)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метил-4*H*-хромен-4-она (соединение 1*A* и 1*B*).**



[0189] **Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1*S*,2*R*,3*R*,5*R*)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1*R*,2*S*,3*S*,5*S*)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0190] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 6-бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1*S*,2*R*,3*R*,5*R*)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1*R*,2*S*,3*S*,5*S*)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176

ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и n-BuOH (360 мл) в атмосфере азота. Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре 120°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде желтого твердого вещества (24 г, 55,8%) [M+H]<sup>+</sup>=370.

**[0191] Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0192] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл) в атмосфере азота. Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидроксида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным солевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество, [M+H]<sup>+</sup>=384.

**[0193] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-**

**6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0194] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонка: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0195] Стадия 4: получение 1-(5-бром-2,4-дигидроксифенил)этенона.**

[0196] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 2000 мл добавляли 2,4-дигидроксиацетофенон (35,00 г, 230,04 ммоль), тетрабутиламмония трибромид (122,01 г, 253,04 ммоль) и CHCl<sub>3</sub> (600 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем реакцию гасили водой (400 мл). Органическую фазу отделяли и полученную водную фазу экстрагировали с помощью 2×300 мл дихлорметана. Органические фазы объединяли, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток хроматографировали (на силикагеле: этилацетат/петролейный эфир (20/80)) с получением после выделения 37 г 1-(5-бром-2,4-дигидроксифенил)этанона в виде белого твердого вещества.

**[0197] Стадия 5: получение 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]этенона.**

[0198] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 2000 мл добавляли 1-(5-бром-2,4-дигидроксифенил)этанон (37 г, 160,14 ммоль), ацетон (500 мл), карбонат калия (35,41 г, 256,23 ммоль) и простой метиловый эфир бромметила (25,81 г, 208,19 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Твердые вещества отфильтровывали и фильтрат затем концентрировали. Полученный осадок объединяли с 400 мл H<sub>2</sub>O и экстрагировали с помощью 2×500 мл дихлорметана. Органические фазы объединяли, высушивали с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали, концентрировали и хроматографировали (колонка с силикагелем: петролейный эфир/этилацетат (20/1)) с получением после выделения примерно 30 г 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]этанона в виде белого твердого вещества.

**[0199] Стадия 6: получение 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]бутан-1,3-диона.**

[0200] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]этанон (28 г, 101,78 ммоль), тетрагидрофуран (300 мл). К данной смеси в атмосфере сухого азота добавляли порциями и с перемешиванием гидрид натрия (9,77 г, 407,13 ммоль) при температуре 0°C. Полученную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 1 часа с последующим добавлением сухого этилацетата (17,94 г, 203,57 ммоль). После добавления этилацетата охлаждающую баню убирали и затем полученную смесь перемешивали в течение 2 часов. Затем реакцию

осторожно гасили за счет добавления 100 мл воды. Полученную смесь экстрагировали с помощью 2×200 мл этилацетата, органические фазы объединяли, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением непосредственно примерно 25 г 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]бутан-1,3-диона в виде светло-желтого твердого вещества.

**[0201] Стадия 7: получение 6-бром-7-гидрокси-2-метилхромен-4-она.**

[0202] В круглодонной колбе вместимостью 1000 мл объединяли 1-[5-бром-2-гидрокси-4-(метоксиметокси)фенил]бутан-1,3-дион (25 г, 78,83 ммоль), Amberlyst-15 (20,00 г), *i*-PrOH (300 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 2 часов при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Твердые вещества фильтровали и промывали с помощью 3×200 мл MeOH. Фильтраты объединяли и концентрировали с получением остатка, который после высушивания затвердевал. Остаток очищали путем кристаллизации из метанола (~200 мл) с получением после выделения 15 г 6-бром-7-гидрокси-2-метилхромен-4-она в виде серого твердого вещества.

**[0203] Стадия 8: получение 6-бром-7-(метоксиметокси)-2-метилхромен-4-она.**

[0204] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, продутую азотом, добавляли 6-бром-7-гидрокси-2-метилхромен-4-он (15 г, 58,81 ммоль, 1,00), тетрагидрофуран (150 мл) и диметилформамид (15 мл). Смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим осторожным добавлением порциями гидрида натрия (2,12 г, 88,21 ммоль) в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 1 часа с последующим добавлением метоксиметилбромида (11,02 г, 88,212 ммоль). Охлаждающую баню убирали и затем полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 часа при температуре окружающей среды. Реакцию гасили за счет добавления воды (100 мл) и полученный раствор экстрагировали с помощью 2×200 мл этилацетата. Объединенную органическую фазу высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт затвердевал и его очищали посредством перекристаллизации из смеси этилацетат/петролейный эфир (4:1) с получением после выделения 15 г (85,27%) 6-бром-7-(метоксиметокси)-2-метилхромен-4-она в виде светло-розового твердого вещества.

**[0205] Стадия 9: получение 7-(метоксиметокси)-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хромен-4-она.**

[0206] В круглодонную колбу вместимостью 100 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 6-бром-7-(метоксиметокси)-2-метилхромен-4-он (3,00 г, 10,03 ммоль), диоксан (30 мл), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (3,06 г, 12,035 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида и дихлорметана (0,37 г, 0,501 ммоль) и ацетат калия (1,97 г, 20,06 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при 100°C в течение 12 часов.

Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, охлаждали и затем гасили за счет добавления 50 мл воды. Полученную смесь экстрагировали с помощью 3×50 мл этилацетата и органические слои объединяли. Объединенные органические слои промывали с помощью 1×50 мл солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир (градиент 0-80%)) с получением после выделения 0,8 г (23,04%) 7-(метоксиметокси)-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хромен-4-она в виде желтого твердого вещества.

[0207] **Стадия 10: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(7-(метоксиметокси)-2-метил-4-оксо-4H-хромен-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(7-(метоксиметокси)-2-метил-4-оксо-4H-хромен-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0208] Во флакон вместимостью 8 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли изомер 1 (150 мг, 0,391 ммоль), тетрагидрофуран (3,00 мл), 7-(метоксиметокси)-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хромен-4-он (406,23 мг, 1,173 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (251,92 мг, 1,173 ммоль) и тетракис(трифенилфосфин)палладий(0) (22,60 мг, 0,020 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при температуре 70°C в течение 12 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь затем снимали с нагревательного устройства и обеспечивали ее охлаждение. Затем реакцию гасили за счет добавления 20 мл воды. Полученный раствор экстрагировали с помощью 3×20 мл этилацетата и органические слои объединяли. Полученную органическую смесь промывали солевым раствором (20 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир (градиент 0-80%)) с получением после выделения 80 мг (36,8%) ПРОМ. СОЕД. 10А в виде желтого твердого вещества.

[0209] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (150 мг, 0,391 ммоль), после выделения получали 81 мг ПРОМ. СОЕД. 10В в виде желтого твердого вещества.

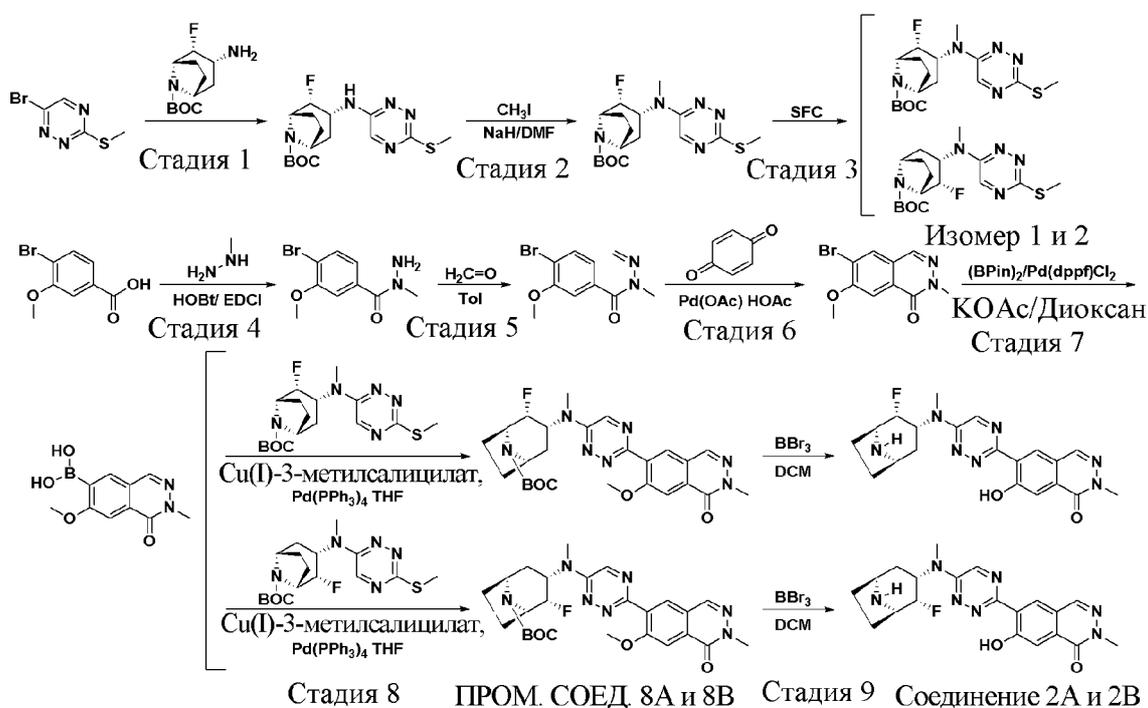
[0210] **Стадия 11: получение 6-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метил-4H-хромен-4-она и 6-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метил-4H-хромен-4-она.**

[0211] В круглодонную колбу вместимостью 8 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли ПРОМ. СОЕД. 10А (80,00 мг, 0,144 ммоль) и HCl в диоксане (2,00 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Затем реакцию гасили за счет добавления 20 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали

дихлорметаном (3×20 мл) и органические слои объединяли. Полученную смесь затем промывали с помощью насыщенного солевого раствора (20 мл). Смесь органических слоев высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Полученный в результате остаток очищали посредством препаративной флеш-НPLC (колонка: C18; подвижная фаза: 0,01% смесь  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}=20\%$  с повышением до 0,01% смеси  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}=60\%$  за 30 мин; детектор: 254 нм) с получением после выделения 25 мг соединения 1A б в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд)  $[\text{M}+\text{H}]^+=412,20$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8,91-8,80 (m, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,40-5,91 (m, 1H), 5,30 (d,  $J=15,5$  Гц, 1H), 4,75 (dd,  $J=49,2, 7,7$  Гц, 1H), 3,66 (s, 2H), 3,18-2,92 (m, 3H), 2,33 (d,  $J=31,4$  Гц, 3H), 2,11 (d,  $J=10,2$  Гц, 1H), 1,85-1,72 (m, 4H), 1,34 (s, 1H).

[0212] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с ПРОМ. СОЕД. 10В, получали 25 мг соединения 1В в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд)  $[\text{M}+\text{H}]^+=412,20$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8,85 (d,  $J=8,9$  Гц, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,39-5,93 (m, 1H), 5,34-4,90 (m, 1H), 4,86-4,55 (m, 1H), 3,61 (d,  $J=28,7$  Гц, 2H), 3,19-2,92 (m, 3H), 2,33 (d,  $J=31,8$  Гц, 3H), 2,23 (s, 1H), 1,88-1,50 (m, 4H), 1,29 (d,  $J=29,6$  Гц, 1H).

[0213] **Пример 2: получение 6-(6-[(1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилфталазин-1-она и 6-(6-[(1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилфталазин-1-она (соединение 2А и 2В).**



[0214] Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-

**ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0215] 6-Бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176 ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и n-BuOH (360 мл) добавляли в 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл в атмосфере азота. Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре 120°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде желтого твердого вещества (24 г, 55,8%) [M+H]<sup>+</sup>=370.

[0216] **Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0217] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл в атмосфере азота добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл). Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидрида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным солевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-

(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество,  $[M+H]^+=384$ .

**[0218] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0219] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонка: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0220] Стадия 4: получение 4-бром-3-метокси-N-метилбензогидразида.**

[0221] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 4-бром-3-метоксибензойную кислоту (15,00 г, 65 ммоль), метилгидразин (11,96 г, 260 ммоль), DMF (150 мл), EDCI (14,93 г, 78 ммоль) и НОВТ (10,53 г, 78 ммоль) при температуре 0°C в атмосфере азота. Полученный раствор перемешивали в течение 4 ч в атмосфере азота и обеспечивали достижение им комнатной температуры. Затем реакцию гасили с помощью 300 мл воды. Смесь экстрагировали с помощью 3×200 мл этилацетата. Органические слои объединяли и промывали с помощью 3×500 мл насыщенного солевого раствора. Смесь затем высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-НPLC (IntelFlash-1: колонка: колонка C18; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), подвижная фаза В: ACN; расход: 80 мл/мин; градиент: от 20 В до 80 В за 25 мин) с получением 12,0 г 4-бром-3-метокси-N-метилбензогидразида в виде светло-желтого масла.

**[0222] Стадия 5: получение 4-бром-3-метокси-N-метил-N'-метиленбензогидразида.**

[0223] В продутую азотом 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 250 мл добавляли 4-бром-3-метокси-N-метилбензогидразид (12,00 г, 46 ммоль), гидроксиметилен (1,67 г, 0,055 ммоль) и толуол (150 мл) в атмосфере азота. Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 120°C и перемешивали в течение 16 часов. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства и охлаждали на водяной/ледяной бане. Смесь затем концентрировали с получением остатка и хроматографировали (на колонке с силикагелем: этилацетат/петролейный эфир (1:3)) с получением 12 г (95,57%) 4-бром-3-метокси-N-метил-N'-метиленбензогидразида в виде белого твердого вещества.

**[0224] Стадия 6: получение 6-бром-7-метокси-2-метилфалазин-1-она.**

[0225] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, продутую сухим азотом, помещали 4-бром-3-метокси-N-метил-N (10 г, 36,89 ммоль), хинон (5,98 г, 55,33 ммоль), ацетат палладия (0,83 г, 3,69 ммоль) и уксусную кислоту (200 мл). Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при температуре 120°C в течение 12 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства и охлаждали с помощью водяной/ледяной бани. Полученную смесь концентрировали и рН остатка регулировали до значения 8 с помощью  $\text{NaHCO}_3$ . Полученную смесь экстрагировали с помощью 3×150 мл этилацетата, органические слои объединяли и высушивали над безводным сульфатом натрия. Смесь фильтровали, концентрировали и очищали (на силикагеле: этилацетат/петролейный эфир (1:3)) с получением 6 г (60,45%) 6-бром-7-метокси-2-метилфталазин-1-она в виде светло-желтого твердого вещества.

**[0226] Стадия 7: получение 7-метокси-2-метил-1-оксофталазин-6-илбороновой кислоты.**

[0227] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, продутую сухим азотом, помещали 6-бром-7-метокси-2-метилфталазин-1-он (6 г, 22 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (8,5 г, 33 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида и дихлорметана (0,91 г, 1 ммоль), ацетат калия (4,38 г, 44 ммоль) и диоксан (120 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при 100°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства и охлаждали на водяной/ледяной бане. Полученную смесь концентрировали и хроматографировали на силикагеле (1:2 этилацетат/петролейный эфир). Остаток в виде твердого вещества выделяли и перекристаллизовывали из петролейного эфира с получением после выделения 3,5 г 7-метокси-2-метил-1-оксофталазин-6-илбороновой кислоты в виде белого твердого вещества.

**[0228] Стадия 8: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(7-метокси-2-метил-1-оксо-1,2-дигидрофталазин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(7-метокси-2-метил-1-оксо-1,2-дигидрофталазин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0229] В герметично закрытую пробирку вместимостью 40 мл, продутую азотом, помещали изомер 1 (150 мг, 0,391 ммоль), 7-метокси-2-метил-1-оксофталазин-6-илбороновую кислоту (183,1 мг, 0,782 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (22,6 мг, 0,02 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (168 мг, 0,782 ммоль) и тетрагидрофуран (3,00 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при 70°C в течение 3 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства и охлаждали на водяной/ледяной бане. Неочищенную реакционную смесь концентрировали и очищали непосредственно с помощью препаративной флеш-НPLC ((IntelFlash-1): колонка: колонка C18; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), подвижная фаза В: ACN; расход: 80 мл/мин; градиент: от 20 В до

70 В за 25 мин) с получением 100 мг ПРОМ. СОЕД. 8А в виде желтого твердого вещества.

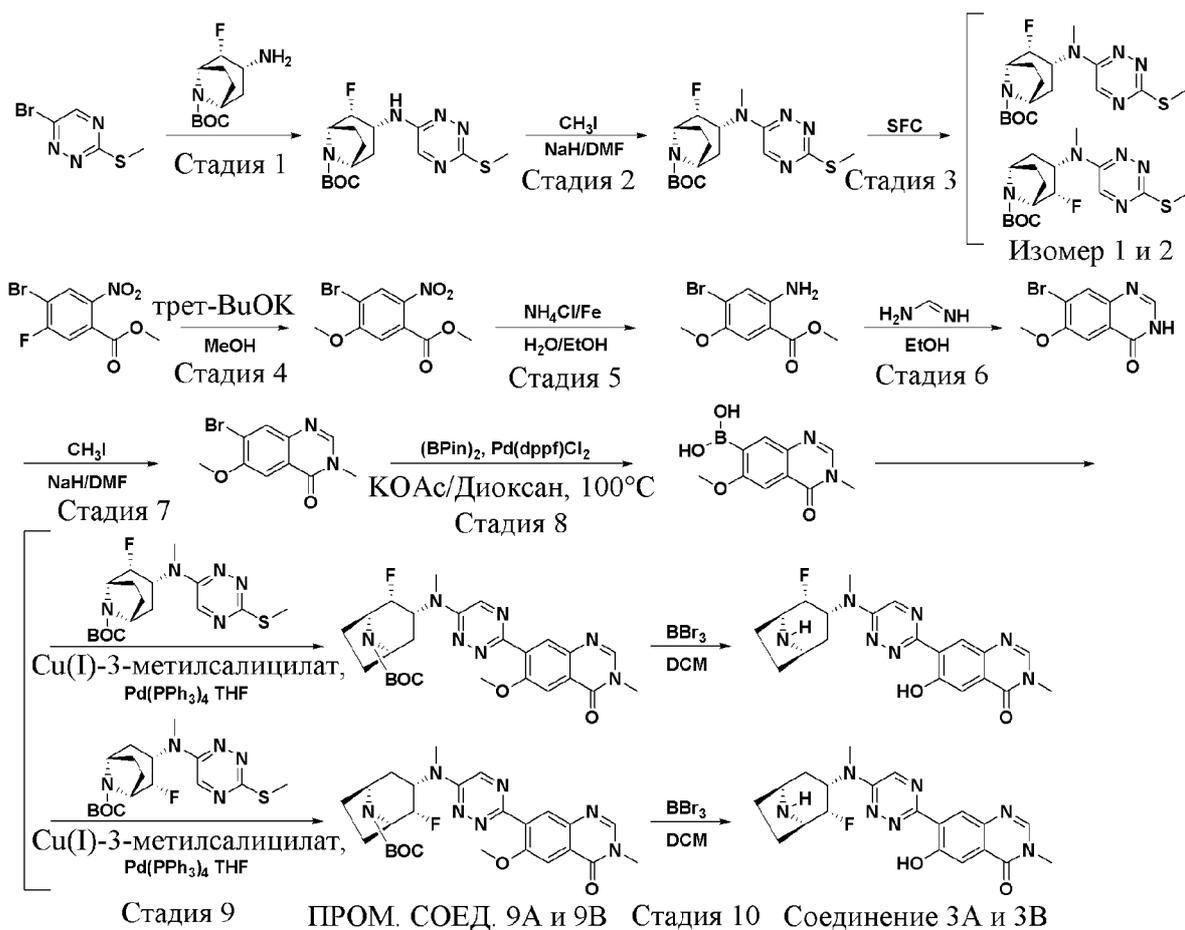
[0230] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (150 мг, 0,391 ммоль), получали 100 мг (48,64%) ПРОМ. СОЕД. 8В в виде желтого твердого вещества.

[0231] **Стадия 9: получение 6-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилфталазин-1(2H)-она и 6-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилфталазин-1(2H)-она (соединение 2А и 2В).**

[0232] В герметично закрытую пробирку вместимостью 40 мл, продутую азотом, помещали ПРОМ. СОЕД. 8А (120 мг, 0,228 ммоль), и объединяли с дихлорметаном (5 мл), и перемешивали. При температуре 0°C добавляли по каплям трибромид бора (3 мл) и полученный раствор перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Затем реакцию гасили за счет добавления 100 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия. Полученный раствор экстрагировали с помощью 4×150 мл смеси дихлорметан/ацетонитрил (10:1), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-НPLC ((IntelFlash-1): колонка C18 Kinetex EVO, 21,2\*150, 5 мкм; подвижная фаза А: вода (10 ммоль/л NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), подвижная фаза В: АСN; расход: 25 мл/мин; градиент: от 5 В до 50 В за 30 мин; 254/220 нм) с получением после выделения 46,9 мг соединения 2А в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=412,2. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 13,21 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 4,97-4,80 (m, 1H), 4,76-4,63 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,64-3,56 (m, 2H), 3,18 (s, 3H), 2,33-2,25 (m, 1H), 1,81-1,60 (m, 5H).

[0233] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с ПРОМ. СОЕД. 8В, получали 21,1 мг (16,95%) соединения 2В в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=412,2. 1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 13,23 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 4,99-4,82 (m, 1H), 4,78-4,61 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,64-3,55 (m, 2H), 3,18 (s, 3H), 2,31-2,25 (m, 1H), 1,81-1,58 (m, 5H).

[0234] **Пример 3: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-3-метилхиназолин-4(3H)-она и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-3-метилхиназолин-4(3H)-она (соединение 3А и 3В).**



[0235] Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.

[0236] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 6-бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176 ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и н-бутанол (360 мл) в атмосфере азота. Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре  $120^\circ\text{C}$  в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом ( $3 \times 250$  мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде

желтого твердого вещества (24 г, 55,8%)  $[M+H]^+=370$ .

**[0237] Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0238] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл) в атмосфере азота. Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидроксида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным соевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество,  $[M+H]^+=384$ .

**[0239] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0240] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонок: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0241] Стадия 4: получение метил-4-бром-5-метокси-2-нитробензоата.**

[0242] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли метил-4-бром-5-фтор-2-нитробензоат (60,00 г, 215,8 ммоль), метанол (600 мл) и трет-бутоксид калия (29,06 г, 258,974 ммоль). Смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Затем смесь концентрировали и промывали водой (300 мл), экстрагировали дихлорметаном (2×200 мл) и органические слои объединяли и затем концентрировали с получением после выделения 59 г (94,25%) метил-4-бром-5-метокси-2-нитробензоата в виде твердого вещества.

**[0243] Стадия 5: получение метил-2-амино-4-бром-5-метоксибензоата.**

[0244] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли метил-4-бром-5-метокси-2-нитробензоат (59,00 г, 203,4 ммоль), этанол, воду, уксусную кислоту и металлический цинк в виде порошка (26,61 г, 406,8 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 3 часов при температуре 60°C, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали охлаждение. Полученный раствор перемешивали в течение 3 часов при температуре 60 градусов Цельсия. Смесь снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение и фильтровали. Полученный в результате фильтрат концентрировали и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (200 мл) и затем экстрагировали дихлорметаном (3×300 мл). Органические слои объединяли, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали до твердого вещества с получением после выделения 40 г (75,61%) метил-2-амино-4-бром-5-метоксибензоата в виде твердого вещества, который применяли непосредственно в следующей реакции.

**[0245] Стадия 6: получение 7-бром-6-метокси-3H-хиназолин-4-она.**

[0246] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли метил-2-амино-4-бром-5-метоксибензоат (34,00 г, 130,725 ммоль), этанол (340,00 мл), уксусную кислоту и формамидин (13,61 г, 130,728 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 3 часов при температуре 80°C, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Затем реакцию осторожно гасили насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (100 мл). Полученную смесь концентрировали и затем экстрагировали дихлорметаном (3×200 мл). Органические слои объединяли, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением после выделения 32 г (95,97%) 7-бром-6-метокси-3H-хиназолин-4-она в виде твердого вещества, который применяли непосредственно в следующей реакции.

**[0247] Стадия 7: получение 7-бром-6-метокси-3-метилхиназолин-4-она.**

В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 250 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли диметилформамид (50 мл) и гидрид натрия (0,56 г, 23,523 ммоль). Смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением 7-бром-6-метокси-3H-хиназолин-4-она (5 г, 19,602 ммоль) при

градусах Цельсия. Обеспечивали перемешивание смеси в течение 30 мин с последующим добавлением метилиодида (2,78 г, 19,586 ммоль). Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 2 часов при комнатной температуре. Реакцию осторожно гасили с помощью льда/воды (30 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (3×80 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором (3×50 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением после выделения 4 г (75,83%) 7-бром-6-метокси-3-метилхиназолин-4-она в виде твердого вещества, который применяли непосредственно в следующей реакции.

**[0248] Стадия 8: получение 6-метокси-3-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хиназолин-4-она.**

[0249] Во флакон вместимостью 40 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, помещали 7-бром-6-метокси-3-метилхиназолин-4-он (1,20 г, 4,459 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (1,36 г, 5,351 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида и дихлорметана (0,16 г, 0,219 ммоль), ацетат калия (0,88 г, 8,919 ммоль) и диоксан (10 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при 100°C в течение 12 часов. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение и концентрировали под вакуумом. Неочищенный остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир (1:3)) с получением после выделения 400 мг (28,37%) 6-метокси-3-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хиназолин-4-она в виде твердого вещества.

**[0250] Стадия 9: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(6-метокси-3-метил-4-оксо-3,4-дигидрохиназолин-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(6-метокси-3-метил-4-оксо-3,4-дигидрохиназолин-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0251] Во флакон вместимостью 8 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли изомер 1 (120 мг, 0,313 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (167,95 мг, 0,782 ммоль), 6-метокси-3-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)хиназолин-4-он (197,86 мг, 0,626 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (18,08 мг, 0,016 ммоль) и тетрагидрофуран (1,20 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при температуре 60°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Полученную смесь концентрировали и неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-НPLC ((IntelFlash-1): колонка: силикагель C18; подвижная фаза: ACN/5MMNH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>=0,2 с повышением до ACN/5MMNH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>=1 за 15 мин; детектор, 254 нм) с получением после выделения 120 мг (72,96%) ПРОМ. СОЕД. 9А в виде твердого вещества.

[0252] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (120 мг, 0,313 ммоль), после выделения получали 86 мг (52,29%) ПРОМ. СОЕД. 9В в виде желтого

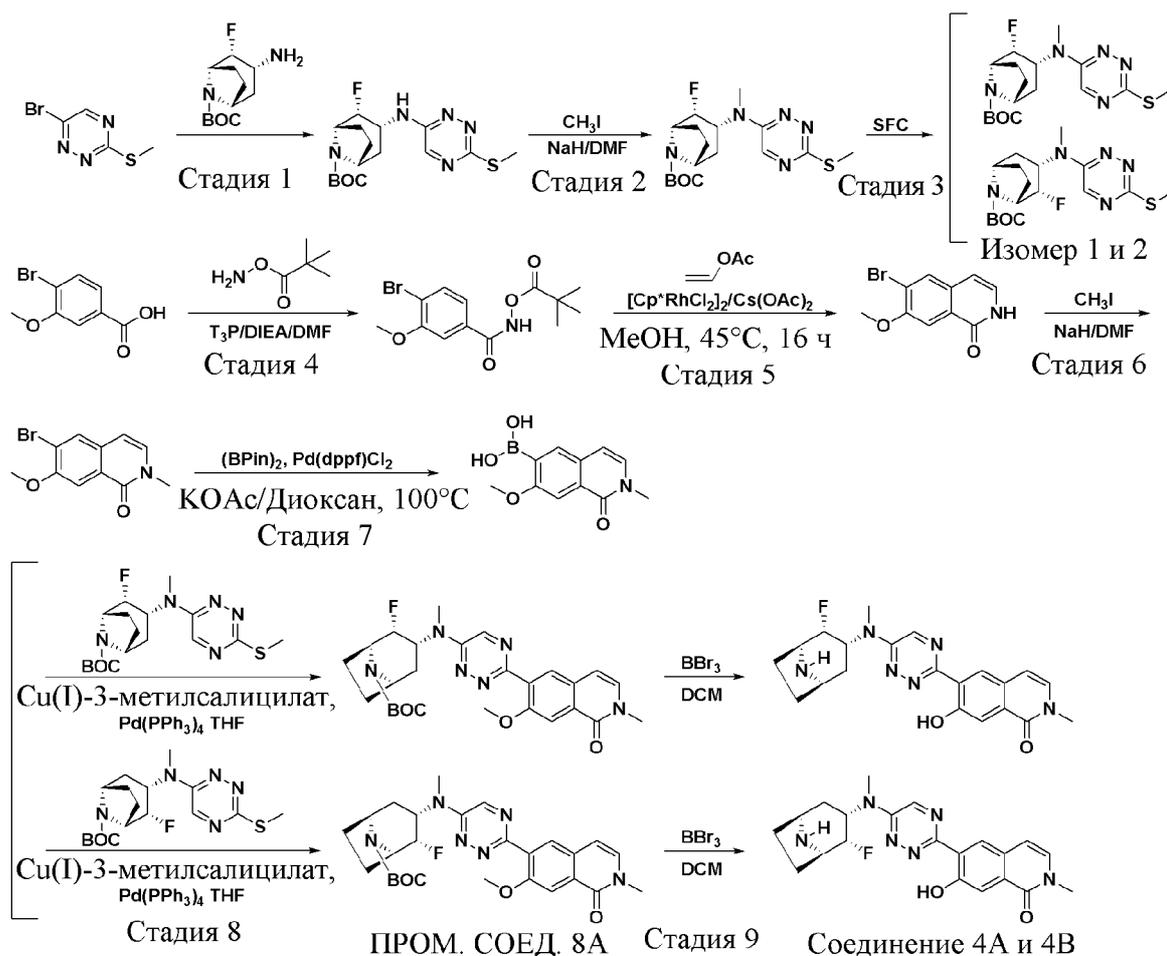
твёрдого вещества.

[0253] **Стадия 10: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-3-метилхиназолин-4(3H)-она и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-3-метилхиназолин-4(3H)-она (соединение 3А и 3В).**

[0254] В круглодонную колбу вместимостью 25 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли **ПРОМ. СОЕД. 9А** (110,00 мг, 0,209 ммоль), дихлорметан (2,00 мл) и по каплям добавляли трибромид бора в дихлорметане (2,00 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем реакцию гасили за счет добавления 2 мл водн. раствора  $\text{NaHCO}_3$ . Смесь экстрагировали дихлорметаном ( $3 \times 10$  мл), органические слои объединяли, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-НPLC ((IntelFlash-1): колонка: силикагель C18; подвижная фаза:  $\text{ACN}/5\text{MMNH}_4\text{CO}_3=0,1$  с повышением до  $\text{ACN}/5\text{MMNH}_4\text{CO}_3=0,5$  за 20 мин; детектор: 254 нм) с получением после выделения 31,9 мг (37,05%) **соединения 3А** в виде твёрдого вещества (ES, масса/заряд):  $[\text{M}+\text{H}]^+=412$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  12,67 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 4,91 (d,  $J=30,9$  Гц, 1H), 4,69 (d,  $J=52,3$  Гц, 1H), 3,54 (s, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,17 (d,  $J=1,7$  Гц, 3H), 2,28 (t,  $J=11,3$  Гц, 1H), 1,85-1,51 (m, 6H).

Следуя представленной выше процедуре, но начиная с **ПРОМ. СОЕД. 9В**, получали 29,3 мг (43,52%) **соединения 3В** в виде желтого твёрдого вещества (ES, масса/заряд):  $[\text{M}+\text{H}]^+=412$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  12,67 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 4,91 (d,  $J=30,9$  Гц, 1H), 4,69 (d,  $J=52,3$  Гц, 1H), 3,54 (s, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,17 (d,  $J=1,7$  Гц, 3H), 2,28 (t,  $J=11,3$  Гц, 1H), 1,91-1,50 (m, 6H).

[0255] **Пример 4: получение 6-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1(2H)-она и 6-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1(2H)-она (соединение 4А и 4В).**



[0256] Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.

[0257] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 6-бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176 ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и н-бутанол (360 мл) в атмосфере азота. Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре 120°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде

желтого твердого вещества (24 г, 55,8%)  $[M+H]^+=370$ .

**[0258] Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0259] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл) в атмосфере азота. Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидроксида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным соевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество,  $[M+H]^+=384$ .

**[0260] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0261] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонок: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0262] Стадия 4: получение 4-бром-3-метокси-N-(пивалоилокси)бензамида.**

[0263] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 4-бром-3-метоксибензойную кислоту (20,00 г, 86,563 ммоль), диметилформамид (100,02 мл), диизопропилэтиламин (89,50 г, 692,506 ммоль), ангидрид пропанфосфоновой кислоты (41,31 г, 129,8 ммоль) и О-пивалоилгидроксиламин (15,21 г, 129,845 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем реакцию гасили водой. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (5×300 мл). Органические слои объединяли, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC с получением после выделения 9,7 г (33,94%) 4-бром-3-метокси-N-(пивалоилокси)бензамида в виде коричневого масла (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=330,1.

**[0264] Стадия 5: получение 6-бром-7-метокси-2H-изохинолин-1-она.**

[0265] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 250 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 4-бром-3-метокси-N-(пивалоилокси)бензамид (9,00 г, 27,258 ммоль), метанол (100,00 мл), пентаметилциклопентадиенил-родия дихлорид (0,17 г, 0,273 ммоль), винилацетат (3,52 г, 40,887 ммоль) и ацетат цезия (1,57 г, 8,177 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 45°C, перемешивали в течение 16 часов, а затем снимали с нагревательного устройства и обеспечивали ее охлаждение. Полученную смесь концентрировали под вакуумом с получением твердого вещества. Неочищенный продукт очищали посредством перекристаллизации из МТВЕ. Твердые вещества собирали путем фильтрации и высушивали под вакуумом с получением 5,3 г (76,53%) 6-бром-7-метокси-2H-изохинолин-1-она в виде грязно-белого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=254,0.

**[0266] Стадия 6: получение 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она.**

[0267] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 100 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли тетрагидрофуран (30,00 мл, 370,290 ммоль) и 6-бром-7-метокси-2H-изохинолин-1-он (2,60 г, 10,233 ммоль). Смесь охлаждали на ледяной/водной бане с последующим добавлением гидроксида натрия (0,61 г, 25,419 ммоль). Затем добавляли метилиодид (2,18 г, 15,350 ммоль) и полученный раствор перемешивали в течение дополнительного 1 часа при температуре 0°C. Затем реакцию гасили за счет добавления 50 мл воды/льда. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), органические слои объединяли, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (дихлорметан/петролейный эфир) с получением после выделения 2,2 г (80,19%) 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она в виде белого твердого вещества.

**[0268] Стадия 7: получение 7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-илбороновой кислоты.**

[0269] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 100 мл, которую продували

азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли бис(пинаколато)дибор (2,73 г, 10,742 ммоль), 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-он (2,40 г, 8,952 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида и дихлорметана (0,33 г, 0,448 ммоль, 0,05), диоксан (30 мл) и ацетат калия (1,76 г, 17,903 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 2 часов при температуре 100°C, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Смесь концентрировали, очищали посредством препаративной HPLC с получением после выделения 950 мг (45,54%) 7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-илбороновой кислоты в виде грязно-белого твердого вещества.

[0270] **Стадия 8: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(7-метокси-2-метил-1-оксо-1,2-дигидроизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(7-метокси-2-метил-1-оксо-1,2-дигидроизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

Во флакон вместимостью 8 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли изомер 1 (120 мг, 0,313 ммоль), 7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-илбороновую кислоту (145,84 мг, 0,626 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (147,79 мг, 0,689 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (18,08 мг, 0,016 ммоль), тетрагидрофуран (2 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 70°C и перемешивали в течение 2 часов, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Смесь очищали посредством препаративной HPLC с получением после выделения 111 мг (67,62%) ПРОМ. СОЕД. **8А** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=525,3.

[0271] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (120 мг, 0,313 ммоль), после выделения получали 112 мг (68,23%) ПРОМ. СОЕД. **8В** в виде желтого твердого вещества.

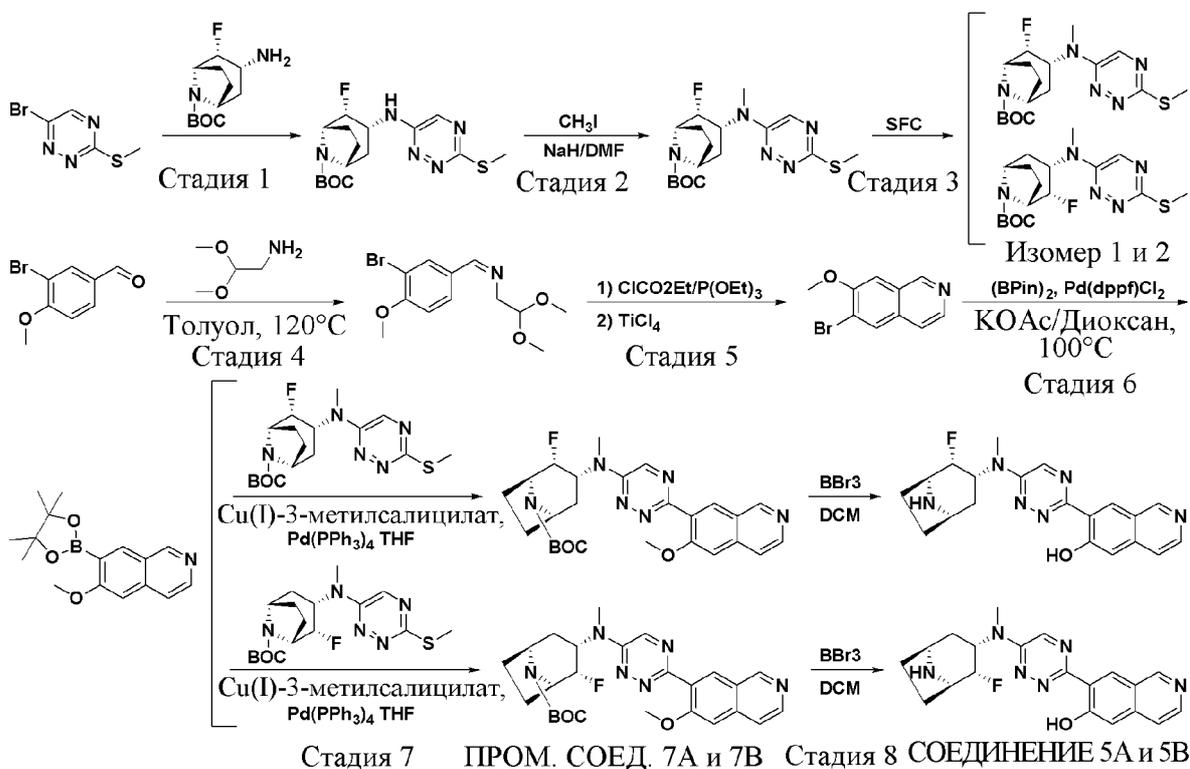
[0272] **Стадия 9: получение 6-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1(2H)-она и 6-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1(2H)-она.**

[0273] Во флакон вместимостью 8 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли ПРОМ. СОЕД. **8А** (111,00 мг, 0,212 ммоль), дихлорметан (1 мл) и трибромид бора (1,00 мл, 10,578 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем реакцию гасили за счет добавления воды/льда. Регулировали pH раствора до значения 8 насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×30 мл). Органические слои объединяли, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении с получением остатка. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной HPLC с получением после

выделения 51,3 мг **соединения 4A** (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=411,2. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 12,34 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,40 (d, J=0,9 Гц, 1H), 8,06 (s, 1H), 6,98-6,90 (m, 1H), 6,53 (d, J=7,3 Гц, 1H), 5,44-5,18 (m, 1H), 4,74 (d, J=51,9 Гц, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,62 (d, J=0,9 Гц, 3H), 3,27-3,15 (m, 3H), 2,36-2,21 (m, 1H), 2,15-1,97 (m, 2H), 1,92-1,81 (m, 2H).

[0274] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с **ПРОМ. СОЕД. 8B** (112,00 мг, 0,213 ммоль), получали 29,3 мг **соединения 4B** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=411,2. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 12,34 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 6,94 (d, J=7,3 Гц, 1H), 6,53 (d, J=7,4 Гц, 1H), 5,32 (d, J=37,0 Гц, 1H), 4,74 (d, J=51,6 Гц, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,62 (s, 3H), 3,22 (d, J=1,6 Гц, 3H), 2,36-2,21 (m, 1H), 2,06 (d, J=6,8 Гц, 2H), 1,91-1,80 (m, 2H).

[0275] **Пример 5: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)изохинолин-6-ола и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)изохинолин-6-ола (соединение 5A и 5B).**



[0276] **Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0277] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 6-бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176 ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и н-бутанол (360 мл) в атмосфере азота. Полученный

раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре 120°C в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде желтого твердого вещества (24 г, 55,8%) [M+H]<sup>+</sup>=370.

**[0278] Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0279] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл) в атмосфере азота. Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидроксида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным солевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество, [M+H]<sup>+</sup>=384.

**[0280] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0281] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонка: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0282] Стадия 4: получение 1-(3-бром-4-метоксифенил)-N-(2,2-диметоксиэтил)метанимина.**

[0283] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл добавляли 3-бром-4-метоксибензальдегид (25 г, 116,000 ммоль), толуол (250 мл) и 2,2-диметоксиэтан-1-амин (19 мл, 174,1 ммоль, 1,50). Реакционную колбу оснащали насадкой Дина-Старка и смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 120°C и перемешивали в течение 6 часов, снимали с нагревательного устройства и обеспечивали ее охлаждение. Полученную смесь затем концентрировали под вакуумом до постоянного веса с получением после выделения 37 г 1-(3-бром-4-метоксифенил)-N-(2,2-диметоксиэтил)метанимина, который применяли непосредственно на следующей стадии. Масса/заряд: 302 (M+H<sup>+</sup>).

**[0284] Стадия 5: получение 7-бром-6-метоксиизохинолина.**

[0285] В 1-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 1-(3-бром-4-метоксифенил)-N-(2,2-диметоксиэтил)метанимин (37 г, 122,45 ммоль), тетрагидрофуран (370 мл). Затем смесь охлаждали до температуры 0°C и добавляли по каплям изопропилхлорформиат (15,01 г, 122,45 ммоль). После перемешивания в течение 5 мин добавляли триэтилфосфит (24,42 г, 146,970 ммоль) и смесь перемешивали в течение 20 мин, затем охлаждающую баню убирали. Полученную смесь затем перемешивали в течение 18 часов при комнатной температуре. Затем растворитель удаляли и оставшийся остаток подвергали азеотропной перегонке со 100 мл толуола. К полученной в результате смеси добавляли тетрахлорид титана (94,16 г) и хлороформ (375 мл) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 48 ч. Смесь снимали с нагревательного устройства и затем выливали на лед/в воду. Затем регулировали pH до значения 9 с помощью гидроксида аммония. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (4 X 200 мл). Органические слои объединяли и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении, полученное очищали посредством колонки с силикагелем (этилацетат:петролейный эфир 3:7) с получением после выделения 6,1 г 7-бром-6-метоксиизохинолина в виде твердого вещества. Масса/заряд: 238 (M+H<sup>+</sup>).

**[0286] Стадия 6: получение 6-метокси-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолина.**

[0287] Во флакон вместимостью 40 мл, который продували азотом и в котором

поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 7-бром-6-метоксиизохинолин (1,50 г, 6,3 ммоль), бис(пинаколато)дибор (1,92 г, 7,561 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида и дихлорметана (0,51 г, 0,625 ммоль), ацетат калия (1,24 г, 12,635 ммоль) и диоксан (30 мл, 354,123 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 4 часов при температуре 100°C, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Полученную смесь разбавляли этилацетатом (200 мл), фильтровали через слой целита и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) с получением красновато-коричневого твердого вещества, которое дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (C18; подвижная фаза: NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (водн.) / MeCN; градиент: от 10% В до 50% В за 30 мин; детектор: 254 нм) с получением после выделения 1,4 г 6-метокси-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолина в виде твердого вещества. Масса/заряд: 286 (M+H<sup>+</sup>).

[0288] **Стадия 7: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(6-метоксиизохинолин-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(6-метоксиизохинолин-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0289] Во флакон вместимостью 40 мл, который продували азотом и в котором поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли изомер 1 (300 мг, 0,782 ммоль), 6-метокси-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин (670 мг, 2,35 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (135 мг, 0,117 ммоль, 0,15), медь(I)-3-метилсалицилат (504 мг, 2,348 ммоль) и тетрагидрофуран (7,50 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 70°C и перемешивали в течение 12 часов, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Полученную смесь разбавляли с помощью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 мл). Полученную смесь промывали с помощью 3×25 мл гидроксида аммония (10%) и 50 мл солевого раствора. Объединенные органические слои высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат: 100%) с получением после выделения 278 мг ПРОМ. СОЕД. 7А в виде светло-желтого твердого вещества. Масса/заряд: 495 (M+H<sup>+</sup>).

[0290] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (350 мг, 0,913 ммоль), после выделения получали 350 мг ПРОМ. СОЕД. 7В в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 495 (M+H<sup>+</sup>).

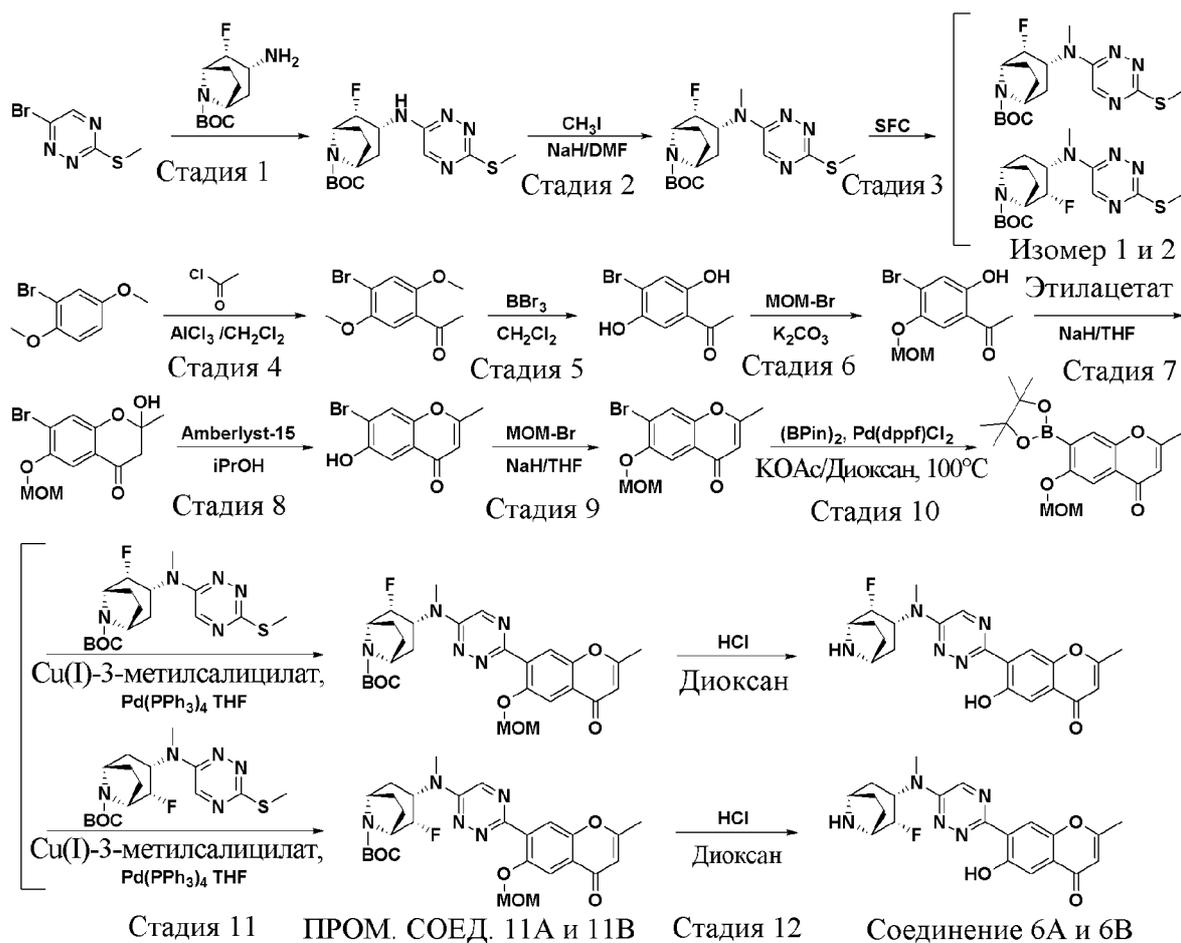
[0291] **Стадия 8: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)изохинолин-6-ола и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)изохинолин-6-ола (соединение 5А и 5В).**

[0292] В круглодонную колбу вместимостью 100 мл помещали ПРОМ. СОЕД. 7А

(150 мг, 0,303 ммоль), дихлорметан (5 мл, 78,65 ммоль) и трибромид бора (759,82 мг, 3,033 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре с последующим гашением водным раствором бикарбоната натрия до конечного значения рН, равного 9. Смесь экстрагировали дихлорметаном (3×50 мл), органические слои объединяли, высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-НPLC (IntelFlash-1): колонка: C18; подвижная фаза: смесь  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (водн.) / MeCN; градиент: от 10% В до 50% В за 30 мин; детектор: 254 нм, с получением после выделения 30 мг **соединения 5А** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд):  $[\text{M}+1]^+=381,2$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 12,96 (s, 1H), 9,31 (d, J=1,1 Гц, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,39 (d, J=5,8 Гц, 1H), 7,66 (d, J=5,9 Гц, 1H), 7,38 (s, 1H), 4,94 (d, J=24,8 Гц, 1H), 4,70 (d, J=52,0 Гц, 1H), 3,55 (s, 2H), 3,18 (d, J=1,7 Гц, 3H), 2,35-2,19 (m, 1H), 1,87-1,52 (m, 5H).

[0293] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с **ПРОМ. СОЕД. 7В** (150 мг, 0,303 ммоль), получали 25 мг **соединения 5В** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд):  $[\text{M}+1]^+=381,2$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 12,96 (s, 1H), 9,31 (d, J=1,1 Гц, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,39 (d, J=5,8 Гц, 1H), 7,66 (d, J=5,9 Гц, 1H), 7,38 (s, 1H), 4,94 (d, J=24,8 Гц, 1H), 4,70 (d, J=52,0 Гц, 1H), 3,55 (s, 2H), 3,18 (d, J=1,7 Гц, 3H), 2,35-2,19 (m, 1H), 1,87-1,52 (m, 5H).

[0294] **Пример 6: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она (соединение 6А и 6В).**



[0295] Стадия 1: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.

[0296] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли 6-бром-3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин (24,00 г, 116,5 ммоль), рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-3-амино-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (43,0 г, 176 ммоль), DIEA (60 мл, 344,5 ммоль) и н-бутанол (360 мл) в атмосфере азота. Полученный раствор помещали на предварительно нагретую масляную баню, перемешивали при температуре  $120^\circ\text{C}$  в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь снимали с нагревательного устройства, и охлаждали до комнатной температуры, и разбавляли водой (700 мл), и затем экстрагировали этилацетатом ( $3 \times 250$  мл). Органические слои объединяли, промывали соевым раствором (250 мл) и высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Смесь фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  (4:1)) с получением рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде

желтого твердого вещества (24 г, 55,8%)  $[M+H]^+=370$ .

**[0297] Стадия 2: получение рацемической смеси трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата, трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0298] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл добавляли трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (21 г, 56,84 ммоль), и диметилформамид (420 мл) в атмосфере азота. Полученную в результате смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидроксида натрия (4,54 г, 113,51 ммоль, 60%) с поддержанием внутренней температуры на уровне 0°C в атмосфере азота. Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение дополнительных 0,5 ч и обеспечивали достижение ею комнатной температуры в атмосфере азота. Метилиодид (7,20 мл, 115,66 ммоль) добавляли по каплям при комнатной температуре с перемешиванием. Полученную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и гасили водой (1 л). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×250 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2×250 мл) и насыщенным соевым раствором (250 мл) и затем высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После фильтрации фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (19:1)) с получением 17 г (78%) трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата в виде рацемической смеси, представляющей собой желтое твердое вещество,  $[M+H]^+=384$ .

**[0299] Стадия 3: хиральное разделение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0300] Рацемическую смесь трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-(метил(3-(метилтио)-1,2,4-триазин-6-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (11,00 г, 28,684 ммоль) очищали посредством препаративной SFC с получением отдельных изомеров. Применяли следующие условия (колонок: CHIRALPAK IG, 2 \* 25 см, 5 мкм; подвижная фаза А: CO<sub>2</sub>, подвижная фаза В: EtOH-HPLC; расход: 40 мл/мин; градиент: 50% В; 250 нм; RT1: 3,99 мин; RT2: 6,19 мин; объем вводимой пробы: 4 мл; число прогонов: 80) с получением изомера 1 (5,0 г) в виде желтого твердого вещества и изомера 2 (5,2 г) в виде желтого твердого вещества.

**[0301] Стадия 4: получение 1-(4-бром-2,5-диметоксифенил)этан-1-она.**

[0302] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 2-бром-1,4-диметоксибензол (60 г, 276,419 ммоль), дихлорметан (500 мл, 7865,023 ммоль) и безводный хлорид алюминия (55,29 г, 414,628 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением по каплям ацетилхлорида (29,59 мл, 414,637 ммоль) в течение периода продолжительностью 10 минут. Затем охлаждающую баню убирали и полученный раствор перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем реакционную смесь осторожно гасили путем медленного добавления 200 мл воды/льда. Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×300 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением после выделения 45 г неочищенного 1-(4-бром-2,5-диметоксифенил)этан-1-она в виде желтого твердого вещества (масса/заряд: 259 (M+H<sup>+</sup>)), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0303] Стадия 5: получение 1-(4-бром-2,5-дигидроксифенил)этан-1-она.**

[0304] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, помещали 1-(4-бром-2,5-диметоксифенил)этанон (45 г, 173,679 ммоль) и дихлорметан (300 мл), которые затем охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением по каплям трибромида бора (1 М в дихлорметане, 694 мл, 694 ммоль) с перемешиванием при поддержании внутренней температуры на уровне 0°C. Затем охлаждающую баню убирали и полученный раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем смесь охлаждали до температуры 0°C и затем осторожно гасили путем медленного добавления 200 мл воды/льда. Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×300 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением 16 г 1-(4-бром-2,5-дигидроксифенил)этан-1-она в виде желтого твердого вещества (масса/заряд: 231(M+H<sup>+</sup>)), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0305] Стадия 6: получение 1-(4-бром-2-гидрокси-5-(метоксиметокси)фенил)этан-1-она.**

[0306] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали нейтральную атмосферу азота, добавляли 1-(4-бром-2,5-дигидроксифенил)этан-1-он (16 г, 69,251 ммоль), карбонат калия (19,14 г, 138,489 ммоль) и ацетон (150 мл). Затем смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением по каплям бром(метокси)метана (8,65 г, 69,251 ммоль). Охлаждающую баню убирали и полученную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Смесь фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением после выделения 15 г 1-(4-бром-2-гидрокси-5-(метоксиметокси)фенил)этан-1-она в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 275 (M+H<sup>+</sup>), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0307] Стадия 7: получение 7-бром-2-гидрокси-6-(метоксиметокси)-2-метилхроман-4-она.**

[0308] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували

азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 1-(4-бром-2-гидрокси-5-(метоксиметокси)фенил)этан-1-он (15 г, 54,526 ммоль), тетрагидрофуран (200 мл, 2468,598 ммоль) и гидрид натрия (5,23 г, 218,1 ммоль, 4,00). Смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением по каплям сухого этилацетата (9,61 г, 109,074 ммоль). Охлаждающую баню убирали и смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем смесь осторожно гасили с помощью 50 мл воды/льда. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (2×200 мл), органические слои объединяли, высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением 12 г 7-бром-2-гидрокси-6-(метоксиметокси)-2-метилхроман-4-она в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 317(M+H<sup>+</sup>), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0309] Стадия 8: получение 7-бром-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она.**

[0310] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 7-бром-2-гидрокси-6-(метоксиметокси)-2-метилхроман-4-он (12 г), пропан-2-ол (100 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали при температуре 65°C с последующим добавлением по каплям Amberlyst-15 (15 г). Полученную смесь перемешивали в течение дополнительных 2 часов при температуре 65°C, затем снимали с нагревательного устройства и обеспечивали ее охлаждение. Смесь фильтровали и полученный фильтрат концентрировали под вакуумом до сухого состояния с получением после выделения 9 г 7-бром-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 255 (M+H<sup>+</sup>), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0311] Стадия 9: получение 7-бром-6-(метоксиметокси)-2-метил-4Н-хромен-4-она.**

[0312] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 500 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 7-бром-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-он (9,00 г, 35,285 ммоль), тетрагидрофуран (100 мл). Смесь охлаждали до температуры 0°C с последующим добавлением порциями гидрида натрия (1,69 г, 70,423 ммоль) при температуре 0°C. К данной смеси добавляли по каплям метоксиметилбромид (8,82 г, 70,57 ммоль), после чего охлаждающую баню убирали и полученную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем реакцию гасили за счет добавления 50 мл воды/льда. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3×200 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением 7 г 7-бром-6-(метоксиметокси)-2-метил-4Н-хромен-4-она в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 299 (M+H<sup>+</sup>), который применяли непосредственно на следующей стадии.

**[0313] Стадия 10: получение 6-(метоксиметокси)-2-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4Н-хромен-4-она.**

[0314] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 250 мл, которую продували

азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, добавляли 7-бром-6-(метоксиметокси)-2-метил-4Н-хромен-4-он (5,00 г, 16,716 ммоль), бис(пинаколато)дибор (8,49 г, 33,433 ммоль), комплекс 1,1-бис(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II)дихлорида и дихлорметана (1,22 г, 1,667 ммоль), диоксан (100 мл) и ацетат калия (3,28 г, 33,421 ммоль). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню и перемешивали в течение 2 часов при температуре 100°C, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Полученный раствор разбавляли этилацетатом (500 мл) и промывали водой (3×50). Органический слой высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и затем концентрировали до сухого состояния под вакуумом. Остаток хроматографировали на силикагеле [(этилацетат/гексан 1:1), препаративная флеш-HPLC (IntelFlash-1): колонка: C18; подвижная фаза: ACN (50%), H<sub>2</sub>O; детектор: 254 нм] с получением после выделения 2 г 6-(метоксиметокси)-2-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4Н-хромен-4-она в виде желтого твердого вещества. Масса/заряд: 265 (M+H<sup>+</sup>).

**[0315] Стадия 11: получение трет-бутил-(1S,2R,3R,5R)-2-фтор-3-((3-(6-метокси-2-метил-4-оксо-4Н-хромен-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата и трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-((3-(6-метокси-2-метил-4-оксо-4Н-хромен-7-ил)-1,2,4-триазин-6-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0316] В круглодонную колбу вместимостью 40 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, помещали изомер 1 (150 мг, 0,391 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (250,74 мг, 1,173 ммоль), 6-(метоксиметокси)-2-метил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4Н-хромен-4-он (309,83 мг, 1,173 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (45,20 мг, 0,039 ммоль) и тетрагидрофуран (10 мл). Полученную смесь помещали на предварительно нагретую масляную баню при температуре 70°C и перемешивали в течение 2 часов, затем снимали с нагревательного устройства, обеспечивали ее охлаждение. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водой (3×30). Смесь высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали под вакуумом и очищали с помощью препаративный HPLC с получением после выделения 60 мг **ПРОМ. СОЕД. 11А** в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 556 (M+H<sup>+</sup>).

[0317] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с изомера 2 (150 мг, 0,391 ммоль), после выделения получали 61 мг **ПРОМ. СОЕД. 11В** в виде желтого твердого вещества, масса/заряд: 556 (M+H<sup>+</sup>).

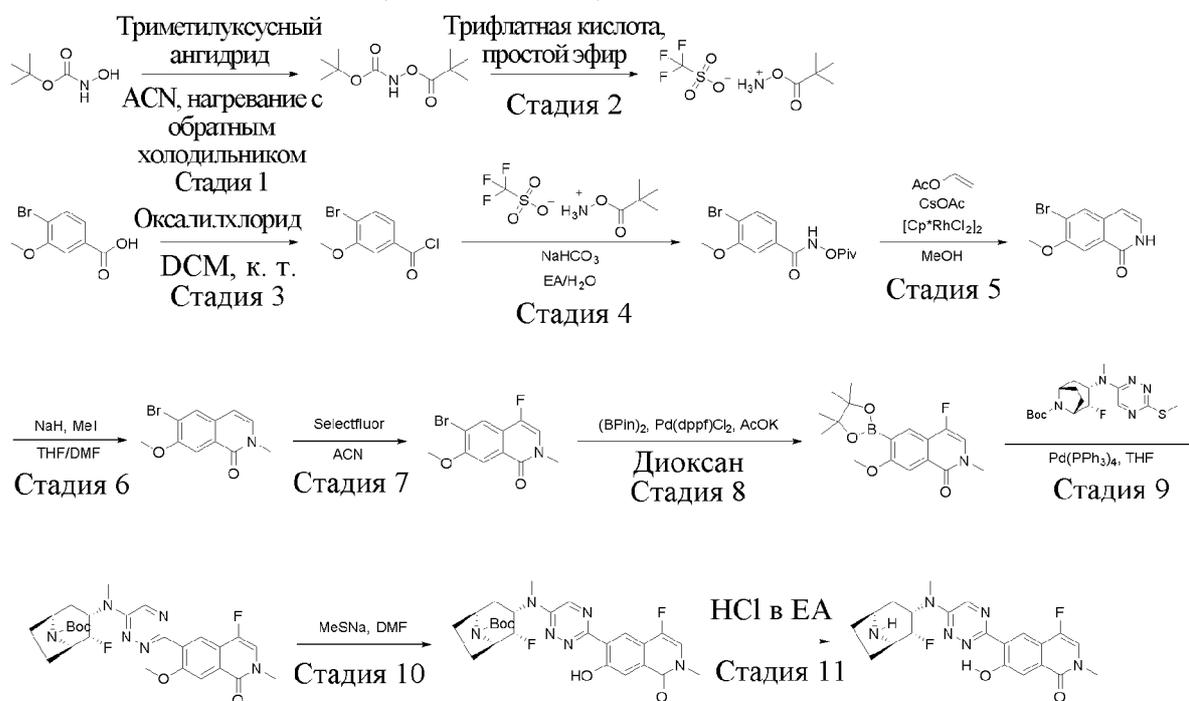
**[0318] Стадия 12: получение 7-(6-(((1S,2S,3R,5R)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она и 7-(6-(((1R,2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-1,2,4-триазин-3-ил)-6-гидрокси-2-метил-4Н-хромен-4-она (соединение 6А и 6В).**

[0319] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 100 мл, которую продували

сухим азотом и в которой поддерживали атмосферу сухого азота, добавляли **ПРОМ. СОЕД. 11А** (100 мг, 0,180 ммоль), дихлорметан (5 мл) и HCl (4 М в 1,4-диоксане, 5 мл). Смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем регулировали pH смеси до значения 9 с помощью водного раствора бикарбоната натрия (1 М). Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×30 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флеш-HPLC (IntelFlash-1): колонка: колонка C18; подвижная фаза: смесь NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (водн.) / MeCN; градиент: от 10% В до 50% В за 30 мин; детектор: 254 нм, с получением после выделения 10,6 мг **соединения 6А** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+1]<sup>+</sup>=412,2 <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 12,46 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 6,23 (s, 1H), 5,03-4,80 (m, 1H), 4,68 (d, J=52,1 Гц, 1H), 3,54 (s, 2H), 3,17 (d, J=1,7 Гц, 3H), 2,41 (d, J=0,7 Гц, 3H), 2,28 (d, J=25,2 Гц, 1H), 1,87-1,50 (m, 5H).

[0320] Следуя представленной выше процедуре, но начиная с **ПРОМ. СОЕД. 11В** (100 мг, 0,180 ммоль), получали 29,3 мг **соединения 6В** в виде желтого твердого вещества (ES, масса/заряд): [M+H]<sup>+</sup>=412,2. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 12,46 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 6,23 (s, 1H), 5,03-4,80 (m, 1H), 4,68 (d, J=52,1 Гц, 1H), 3,54 (s, 2H), 3,17 (d, J=1,7 Гц, 3H), 2,41 (d, J=0,7 Гц, 3H), 2,28 (d, J=25,2 Гц, 1H), 1,87-1,50 (m, 5H).

[0321] **Пример 7: получение 4-фтор-6-(6-((2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1-она (соединение 6б).**



[0322]

[0323] **Стадия 1: получение (трет-бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропаноата.**

[0324] В 4-горлую круглодонную колбу вместимостью 10 л добавляли трет-бутил-

N-гидроксикарбамат (250,00 г, 1877,6 ммоль) и ACN (5 л). Затем добавляли по каплям триметилуксусный ангидрид (384,68 г, 2065,4 ммоль) и полученную смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Обеспечивали охлаждение реакционной смеси до температуры окружающей среды, затем концентрировали под вакуумом. Остаток разделяли между EtOAc (7 л) и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (5 л). Органические слои разделяли и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×2 л), высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 350 г (85,8%) (трет-бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропаноата в виде грязно-белого твердого вещества.

**[0325] Стадия 2: получение трифлата [(2,2-диметилпропаноил)окси]азания.**

[0326] В 4-горлую круглодонную колбу вместимостью 10 л к (трет-бутоксикарбонил)амино-2,2-диметилпропаноату (350,00 г, 1610,9 ммоль) в диэтиловом эфире (7,0 л) при температуре 0°C добавляли 2,2,2-трифторэтансульфоновую кислоту (241,75 г, 1610,9 ммоль) (отмечено интенсивное газообразование). Реакционную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 5 мин и затем обеспечивали ее нагревание до к. т. Через 1 ч добавляли гексан (3 л) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Полученное твердое вещество фильтровали, промывали с помощью гексанов (3×1 л) и высушивали в вакуумном сушильном шкафу с получением 300 г (69,69%) трифлата [(2,2-диметилпропаноил)окси]азания в виде грязно-белого твердого вещества.

**[0327] Стадия 3: получение 4-бром-3-метоксибензоилхлорида.**

[0328] В 4-горлую круглодонную колбу вместимостью 5 л к перемешиваемой суспензии 4-бром-3-метоксибензойной кислоты (300 г, 1298,4 ммоль) в DCM (3 л) и DMF (30,15 мл, 389,5 ммоль) добавляли по каплям оксалилхлорид (197,77 г, 1558,1 ммоль) при температуре окружающей среды в атмосфере азота. Полученный раствор перемешивали в течение 3 ч при к. т. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. В результате этого получали 4-бром-3-метоксибензоилхлорид (380 г, неочищенный) в виде грязно-белого твердого вещества, который применяли непосредственно на следующей стадии.  $[M+H]^+=248,9$ .

**[0329] Стадия 4: получение бром-3-метоксифенил)формамидо-2,2-диметилпропаноата.**

[0330] В 4-горлую круглодонную колбу вместимостью 3 л к трифлату [(2,2-диметилпропаноил)-окси]аммония (152,00 г, 568,8 ммоль) в EA (500 мл) добавляли по каплям раствор бикарбоната натрия (88,00 г, 1047,5 ммоль) в воде (500 мл) при температуре 0°C. После перемешивания в течение 30 мин добавляли по каплям раствор 4-бром-3-метоксибензоилхлорида (120,00 г, 481 ммоль) в EA (1,20 л) при температуре 0°C. Полученную смесь затем перемешивали в течение 2 ч при к. т. Органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом (2×500 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (2×500 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси PE/EA (5/1) в качестве

элюента с получением 126 г (79,6%) (4-бром-3-метоксифенил)формамидо-2,2-диметилпропаноата в виде белого твердого вещества.  $[M+H]^+=331,02$ .

**[0331] Стадия 5: получение 6-бром-7-метокси-2Н-изохинолин-1-она.**

[0332] В 4-горлую круглодонную колбу вместимостью 3 л добавляли (4-бром-3-метоксифенил)формамидо-2,2-диметилпропаноат (250,00 г, 757,2 ммоль), винилацетат (99,73 г, 1158,5 ммоль), ацетат цезия (45,05 г, 234,7 ммоль), бис[(пентаметилциклопентадиенил)дихлор-родий] (4,68 г, 7,6 ммоль) и MeOH (2,5 л). Полученную смесь перемешивали в течение 16 ч при температуре 40°C в атмосфере азота. Обеспечивали охлаждение смеси до к. т. Осажденные твердые вещества собирали путем фильтрации и промывали холодным диэтиловым эфиром (3×1000 мл). В результате этого получали 6-бром-7-метокси-2Н-изохинолин-1-он (120 г, 62,38%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $[M+H]^+=254,97$ .

**[0333] Стадия 6: получение 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она.**

[0334] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 1 л к перемешиваемой суспензии 6-бром-7-метокси-2Н-изохинолин-1-она (120 г, 472,3 ммоль) в THF (1,2 л) и DMF (0,5 L) добавляли порциями гидрид натрия в виде 60% суспензии в минеральном масле (28,71 г, 717,9 ммоль) при температуре 0°C в атмосфере азота. Полученный раствор перемешивали при температуре 0°C в течение 30 мин. Метилиодид (81,76 г, 524,2 ммоль) добавляли по каплям при температуре 0°C в атмосфере азота. Полученный раствор нагревали до к. т. Через 1 ч реакционную смесь выливали в холодную воду (2 л) и перемешивали в течение 15 мин. Осажденные твердые вещества собирали путем фильтрации и промывали холодной водой (3×1 л). Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, элюировали смесью PE/EA (3:1) с получением 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она (102 г, 85,55%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $[M+H]^+=268$ .

**[0335] Стадия 7: получение 6-бром-4-фтор-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она.**

[0336] В 3-горлую круглодонную колбу к 6-бром-7-метокси-2-метилизохинолин-1-ону (102 г, 380,4 ммоль) в ацетонитриле (2 л) добавляли Selectfluor (134,77 г, 380,4 ммоль) при к. т. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч при температуре 80°C в атмосфере азота. Обеспечивали охлаждение смеси до к. т. Реакцию гасили водой (1000 мл). Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×1000 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1×1000 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, при этом осуществляли элюирование с помощью смеси PE/EA (1:01) с получением 6-бром-4-фтор-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она (30 г, 27,56%) в виде белого твердого вещества.  $[M+H]^+=285,9$ .

**[0337] Стадия 8: получение 4-фтор-7-метокси-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-она.**

[0338] Смесь 6-бром-4-фтор-7-метокси-2-метилизохинолин-1-она (30 г, 104,9

ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (53,26 г, 209,7 ммоль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (3,84 г, 5,243 ммоль) и ацетата калия (15,44 г, 157,3 ммоль) в диоксане (300 мл) перемешивали при температуре 100°C в течение 2 ч. После охлаждения до к. т. полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, элюировали с помощью смеси дихлорметан/метанол (20:01) с получением 4-фтор-7-метокси-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-она (19 г, 54,39%) в виде белого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=334,2.

**[0339] Стадия 9: получение трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0340] В 3-горлую круглодонную колбу вместимостью 40 мл, которую продували азотом и в которой поддерживали нейтральную атмосферу азота, помещали трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-[метил[3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин-6-ил]амино]-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (1,00 г, 2,6 ммоль), 4-фтор-7-метокси-2-метил-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-он (1,74 г, 5,2 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилат (1,40 г, 6,5 ммоль), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,30 г, 0,3 ммоль) и THF (10,00 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 2 ч при температуре 70°C. Реакцию гасили за счет добавления 30 мл 10% по весу водного раствора аммиака и твердые вещества отфильтровывали. Полученный раствор экстрагировали с помощью 3×50 мл дихлорметана. Объединенные органические фазы промывали с помощью 50 мл солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии с обращенной фазой при следующих условиях: колонка: силикагель C18; подвижная фаза: ACN в воде (0,5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), градиент: от 25% до 85% за 30 мин; детектор: УФ, 254 нм. В результате этого получали трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (800 мг, 56,54%) в виде светло-желтого твердого вещества.

[0341] Данную процедуру повторяли 13 раз в параллельном режиме с получением трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (12 г) в виде желтого твердого вещества. Объединенные фракции трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (12) в THF (240 мл) смешивали с функционализированным сульфгидрильной группой диоксидом кремния PSB-20 (1,2 г) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при температуре 50°C в атмосфере азота, охлаждали до к. т. В результате фильтрации, промывки с помощью THF (3×100 мл) и концентрирования получали продукт. Данную процедуру повторяли 8 раз и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-

триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (12 г) в виде желтого твердого вещества.  $[M+H]^+=543,1$ .

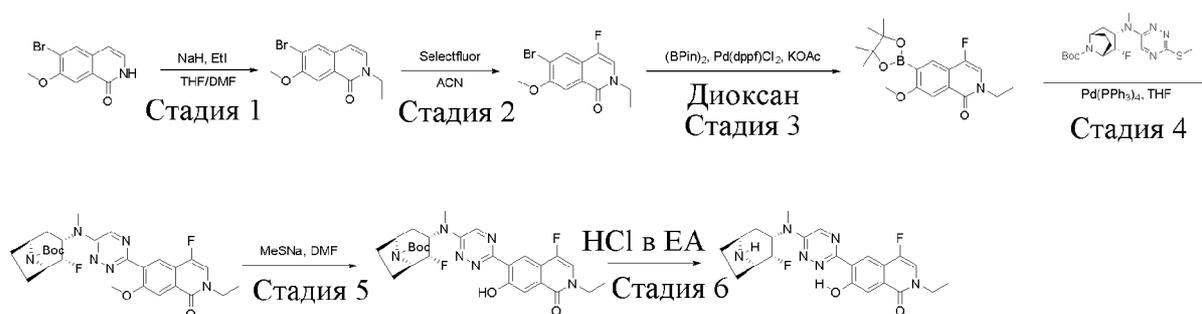
**[0342] Стадия 10: получение трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-гидрокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0343] В 3-горлую круглодонную колбу к трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-метокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилату (12 г, 22,1 ммоль) в DMF (120 мл) добавляли метантиолат натрия (7,75 г, 110,6 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре 100°C в атмосфере азота. Мониторинг реакции осуществляли посредством LCMS. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и гасили ее водой (100 мл). Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×200 мл). Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии с обращенной фазой при следующих условиях: колонка: силикагель C18; подвижная фаза: CH<sub>3</sub>CN в воде, градиент от 25% до 85% за 30 мин; детектор: УФ, 254 нм. В результате этого получали трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-гидрокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (8 г, 68,44%) в виде светло-желтого твердого вещества.  $[M+H]^+=529,4$ .

**[0344] Стадия 11: получение 4-фтор-6-(6-{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1-она (соединение 66).**

[0345] К перемешиваемому раствору трет-бутил-(2S,3S,5S)-2-фтор-3-{[3-(4-фтор-7-гидрокси-2-метил-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (8 г) в этилацетате (100 мл) добавляли по каплям насыщенный раствор HCl в этилацетате (80 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь перемешивали в течение 1,5 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Повышали основность смеси до pH 8~9 с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×300 мл) и концентрировали при пониженном давлении. В результате этого получали 4-фтор-6-(6-{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидрокси-2-метилизохинолин-1-он (соединение 66) (5,3 г, 80,18%) в виде светло-желтого твердого вещества. LC $[M+H]^+=429,2$ . <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 12,57 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,03 (d, J=2,2 Гц, 1H), 6,90 (d, J=6,1 Гц, 1H), 5,29 (dddd, J=34,3, 12,8, 5,8, 2,8 Гц, 1H), 4,74 (dt, J=51,8, 3,4 Гц, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,58 (s, 3H), 3,22 (d, J=1,7 Гц, 3H), 2,29 (td, J=12,7, 3,2 Гц, 1H), 2,12-1,99 (m, 2H), 1,92-1,79 (m, 2H), 1,77-1,67 (m, 1H).

**[0346] Пример 8: получение 2-этил-4-фтор-6-(6-{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидроксиизохинолин-1-она (соединение 163).**



**[0347] Стадия 1: получение 6-бром-7-метокси-2-этилизохинолин-1-она.**

[0348] К перемешиваемой суспензии 6-бром-7-метокси-2Н-изохинолин-1-она (245,00 г, 964,6 ммоль) в THF (2,5 л) и DMF (1 л) в 3-горлой круглодонной колбе вместимостью 1 л добавляли порциями гидрид натрия (60% раствор в минеральном масле) (57,87 г, 1446,9 ммоль) при температуре 0°C в атмосфере азота. Через 30 мин при температуре 0°C добавляли по каплям этилиодид (180,57 г, 1157,5 ммоль) при температуре 0°C. Полученный раствор нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь выливали в холодную воду (2 л) и перемешивали в течение 15 мин. Осажденные твердые вещества собирали путем фильтрации и промывали холодной водой (3×1 л). Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, при этом осуществляли элюирование с помощью смеси PE/EA (3:01) с получением 6-бром-7-метокси-2-этилизохинолин-1-она (230 г, 84,56%) в виде грязно-белого твердого вещества.

**[0349] Стадия 2: получение 6-бром-2-этил-4-фтор-7-метоксиизохинолин-1-она.**

[0350] К 6-бром-2-этил-7-метоксиизохинолин-1-ону (230 г, 815,2 ммоль) в ацетонитриле (4560 мл) добавляли selectfluor (288,80 г, 815,2 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч при 80°C в атмосфере азота. После охлаждения до к. т. реакцию гасили водой (800 мл). Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3×1000 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1×1000 мл), высушивали над безводным сульфатом натрия. В результате фильтрации и концентрирования получали остаток, который очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, осуществляя элюирование смесью PE/EA (1:01), с получением 6-бром-2-этил-4-фтор-7-метоксиизохинолин-1-она (120 г, неочищенный). Неочищенный продукт очищали посредством флеш-хроматографии с обращенной фазой при следующих условиях: колонка: силикагель C18; подвижная фаза: ACN в воде (0,1% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), градиент: от 25% до 85% за 30 мин; детектор: УФ, 254 нм; с получением 6-бром-2-этил-4-фтор-7-метоксиизохинолин-1-она (75 г, 30,65%) в виде белого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=300.

**[0351] Стадия 3: получение 2-этил-4-фтор-7-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-она.**

[0352] Смесь 6-бром-2-этил-4-фтор-7-метоксиизохинолин-1-она (75 г, 249,9 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (126,92

г, 499,8 ммоль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (9,14 г, 12,5 ммоль), ацетата калия (36,79 г, 374,8 ммоль) в диоксане (750 мл) перемешивали при температуре 100°C в течение 2 ч. После охлаждения полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии на силикагеле, осуществляя элюирование смесью дихлорметан/метанол (20:1), с получением 2-этил-4-фтор-7-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-она (65 г, 74,92%) в виде желтого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=348.

**[0353] Стадия 4: получение трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0354] Смесь трет-бутил-(1R,2S,3S,5S)-2-фтор-3-[метил[3-(метилсульфанил)-1,2,4-триазин-6-ил]амино]-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (1,00 г, 2,6 ммоль), 2-этил-4-фтор-7-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изохинолин-1-она (1,81 г, 5,2 ммоль), медь(I)-3-метилсалицилата (1,40 г, 6,5 ммоль), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,30 г, 0,26 ммоль) в THF (10 мл) перемешивали в течение 2 ч при температуре 70°C в атмосфере N. Реакцию гасили посредством добавления 30 мл 10% смеси аммиак/вода и твердые вещества отфильтровывали. Полученный раствор экстрагировали с помощью 3×50 мл дихлорметана. Объединенные органические фазы промывали с помощью 50 мл солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии с обращенной фазой при следующих условиях: колонка: силикагель C18; подвижная фаза: ACN в воде (0,5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), градиент: от 25% до 85% за 30 мин; детектор: УФ, 254 нм. В результате этого получали трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат, 0,80 г (55,12%), в виде светло-желтого твердого вещества.

[0355] Данную процедуру повторяли 20 раз в параллельном режиме с получением трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (22 г) в виде желтого твердого вещества. Объединенные фракции трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (22 г, 39,55 ммоль) в THF (240 мл) смешивали с функционализированным сульфгидрильной группой диоксидом кремния PSB-20 (2,2 г) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при температуре 50°C в атмосфере N, охлаждали до к. т. и фильтровали, осадок на фильтре промывали с помощью THF (3×10 мл). Данную процедуру повторяли 8 раз и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (21 г) в виде желтого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=556,26.

**[0356] Стадия 5: получение трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-**

**гидрокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата.**

[0357] К трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-метокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилату (20 г, 35,931 ммоль) в DMF (182 мл) добавляли метантиолат натрия (12,59 г, 179,7 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре 100°C. Мониторинг реакции осуществляли посредством LCMS. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры и гасили ее водой (200 мл). Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×200 мл). В результате выпаривания получали остаток, который очищали посредством флеш-хроматографии с обращенной фазой при следующих условиях: колонка: силикагель C18; подвижная фаза: CH<sub>3</sub>CN в воде, градиент: от 25% до 85% за 30 мин; детектор: УФ, 254 нм. В результате этого получали трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-гидрокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (15 г, 76,94%) в виде светло-желтого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=542,2.

**[0358] Стадия 6: получение 2-этил-4-фтор-6-(6-{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидроксиизохинолин-1-она (соединение 163).**

[0359] К перемешиваемому раствору трет-бутил-(2S,3S,5S)-3-{[3-(2-этил-4-фтор-7-гидрокси-1-оксоизохинолин-6-ил)-1,2,4-триазин-6-ил](метил)амино}-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (15 г) в этилацетате (150 мл) добавляли по каплям HCl(газ) в EA (150 мл) при комнатной температуре в атмосфере N<sub>2</sub>. Полученную смесь перемешивали в течение 1,5 ч при к. т. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Повышали основность смеси до pH 8~9 с помощью насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×300 мл) и концентрировали при пониженном давлении. В результате этого получали 2-этил-4-фтор-6-(6-{[(2R,3S,5S)-2-фтор-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил](метил)амино}-1,2,4-триазин-3-ил)-7-гидроксиизохинолин-1-он (соединение 171) (11,6 г) в виде светло-желтого твердого вещества. [M+H]<sup>+</sup>=443,25. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, хлороформ-d) δ 12,56 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,06 (d, J=2,2 Гц, 1H), 6,91 (d, J=6,2 Гц, 1H), 5,31 (dddd, J=34,3, 12,8, 5,8, 2,8 Гц, 1H), 4,86-4,61 (m, 1H), 4,03 (q, J=7,2 Гц, 2H), 3,78 (s, 2H), 3,22 (d, J=1,6 Гц, 3H), 2,30 (td, J=12,7, 3,2 Гц, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,93-1,79 (m, 2H), 1,71 (dd, J=12,2, 5,3 Гц, 1H), 1,40 (t, J=7,2 Гц, 3H).

**[0360] Пример 9: Количественный анализ сплайсинга SMN.**

[0361] Фибробласты от пациентов со спинальной мышечной атрофией (SMA) (GM03813, Coriell) высевали в 96-луночные планшеты в количестве 50000 клеток/луночка. Непосредственно после посева к клеткам добавляли дозы соединений на 24 ч при концентрациях, находящихся в диапазоне от 2,5 мкМ до 0,6 нМ (0,1% DMSO). Обработанные клетки подвергали лизису и обеспечивали синтез cDNA с применением набора Fast Advanced Cells-to-Ct (ThermoFisher A35378) в соответствии с инструкциями

производителя. В реакционных смесях для qPCR применяли по 2 мкл каждой cDNA. Реакционные смеси для qPCR получали в 384-луночных планшетах в объеме 10 мкл с применением TaqMan™ Fast Advanced Master Mix (ThermoFisher; 4444965) с праймерами и зондами, представленными в таблице 4 ниже. Реакции осуществляли в приборе для qPCR Quant Studio 6 с настройками по умолчанию.

[0362] Таблица 4

Мишень	Праймер 1	Зонд	Праймер 2
SMN FL-FAM	(SEQ ID NO: 1) 5'GCTCACATTCC ТТAAATTAAGGA GAAA3'	(SEQ ID NO: 2) 5'CTGGCATAGAGCAGCA СТААATGACACCAC3'	(SEQ ID NO: 3) 5'TCCAGATCTGTCT GATCGTTTCTT3'
SMN Δ7-FAM	(SEQ ID NO: 4) 5'TGGCTATCATA CTGGCTATTATA TGGAA3'	(SEQ ID NO: 5) 5'CTGGCATAGAGCAGCA СТААATGACACCAC3'	(SEQ ID NO: 6) 5'TCCAGATCTGTCT GATCGTTTCTT3'
ТВР-УАК (эндогенный контроль)	(SEQ ID NO: 7) 5'TCGGAGAGTTC TGGGATT 3'	(SEQ ID NO: 8) 5'CCGCAGCTGCAAAATA TTGTATCCACA3'	(SEQ ID NO: 9) 5'AAGTGCAATGGT CTTAGGT3'

## [0363] Пример 10: Анализ белка SMN.

[0364] Фибробласты от пациентов со спинальной мышечной атрофией (SMA) высевали в 96-луночные планшеты в количестве 7 000 клеток/луночка. Соединения добавляли в концентрациях, находящихся в диапазоне от 0,6 нМ до 2,5 мкМ, инкубировали в течение 48 часов и клетки подвергали лизису с помощью 100 мкл буфера для лизиса. Для измерения содержания белка SMN посредством анализа Mesoscale Discovery (MSD), разработанного PharmOptima (Мичиган), применяли 20 мкл лизата. Стандартную кривую, полученную с использованием белка SMN, концентрация которого находилась в диапазоне от 1 мкг/мл до 19,5 пг/мл, использовали в каждом планшете MSD для расчета абсолютного количества белка SMN в каждом образце.

[0365] Результаты как для количественного анализа сплайсинга SMN, так и для анализа белка представлены в таблице 5 ниже.

Таблица 5. \* Диапазон EC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub> (нМ): 0,01 ≤ A ≤ 15; 16 ≤ B ≤ 50; 51 ≤ C ≤ 100; 101 ≤ D ≤ 500; 501 ≤ E ≤ 10000; N/T - тестирование не проводили.

Соединение	EC50 белка SMN2 (нМ)	IC50 сплайсинга D7 SMN2 (нМ)
1A	B	B
1B	A	B
2A	A	A
2B	A	A
3A	B	B
3B	A	A
4A	B	B
4B	A	A
5A	D	D
5B	A	B
6A	A	B

6B	A	A
7A	A	A
7B	A	B
9	A	N/T
17	B	B
18	A	A
19	D	D
20	B	B
21	B	D
22	A	B
23	E	D
24	B	B
25	E	D
26	B	C
27	A	A
28	A	A
29	E	E
30	D	D
31	C	C
32	A	A
33	B	D
34	A	A
35	A	A
36	B	B
37	A	A
38	A	A
39	C	D
40	A	B
43	B	C
44	A	A
45	B	B
46	A	A
47	B	C
48	A	A
51	C	C
52	A	B
53	D	C
54	D	B
55	B	B
56	B	A
57	B	D
58	B	B
59	B	B
60	A	B
61	A	C
62	A	A
63	A	B
64	A	A

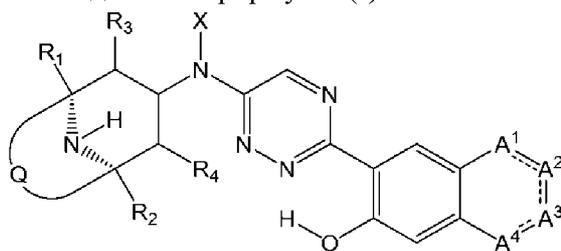
65	A	B
66	A	A
67	C	D
68	E	D
69	A	A
72	C	C
75	B	D
76	A	B
77	B	B
78	A	A
79	B	D
80	A	A
81	B	C
82	A	A
83	B	D
84	A	A
85	B	A
86	C	C
87	A	A
88	C	B
89	C	D
90	B	B
93	B	B
96	A	A
99	D	D
100	A	B
101	A	A
102	A	A
105	B	D
106	A	B
109	E	E
110	D	C
111	C	D
112	B	B
115	B	D
116	B	C
117	B	C
118	A	A
121	A	A
122	E	C
123	A	A
124	B	B
125	B	A
126	C	D
127	A	A
128	A	B
131	A	A
132	C	B

135	A	A
136	A	A
137	A	A
138	A	B
139	A	B
140	B	D
141	D	D
142	A	B
143	C	D
144	A	A
147	A	A
148	A	A
149	C	A
150	A	A
151	A	A
152	A	A
155	A	A
156	A	B
157	B	B
158	A	A
159	A	B
160	D	D
161	A	C
162	A	C
163	A	A
164	B	C
165	A	A
166	A	B
167	A	A
168	A	C
169	A	B
170	B	C
171	A	A
172	A	A
173	B	B
174	A	A
175	A	A
176	A	B
177	A	A
178	A	A
181	A	A
182	A	A
183	A	A
184	A	A
185	A	A
186	A	B
187	A	A
188	A	A

191	A	A
192	A	A
193	A	A
194	A	A
195	A	A
196	C	B
199	A	A
200	B	B
201	A	A
202	A	C
204	A	A
205	A	A
206	A	A
207	A	B
208	A	A
209	D	C
210	A	A
211	E	D
212	E	C
213	A	B
214	E	E
215	B	B
218	N/T	C
219	N/T	B
221	N/T	E
222	N/T	D
223	A	A

## УТОЧНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



Формула (I),

где

Q представляет собой замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>алкилен или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>гетероалкилен;

X представляет собой водород, CH<sub>3</sub> или замещенный или незамещенный C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>циклоалкил;

каждый из R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляет собой водород, галоген или CH<sub>3</sub>;

каждый из R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub> независимо представляет собой водород или галоген;

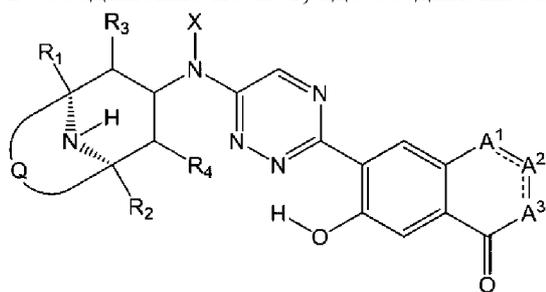
каждый из A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup> и A<sup>4</sup> независимо представляет собой N, -NR<sup>Y1</sup>-, -O-, -S- или CR<sup>A1</sup>;

каждый  $\overline{\quad\quad\quad}$  независимо представляет собой одинарную или двойную связь;

каждый R<sup>A1</sup> независимо представляет собой водород, галоген, =O или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил; и

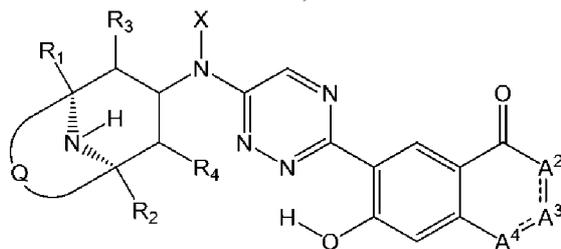
каждый R<sup>Y1</sup> независимо представляет собой водород или замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкил.

2. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ia),



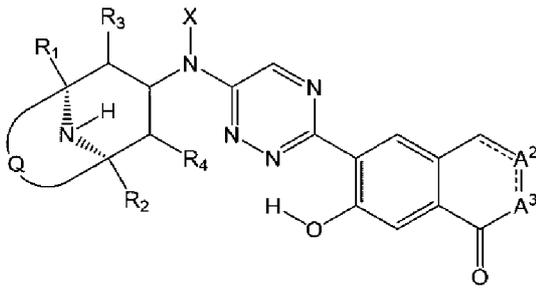
Формула (Ia).

3. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ib),



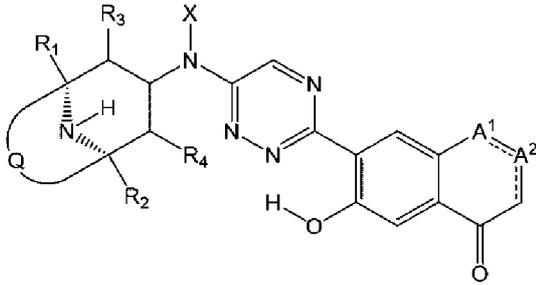
Формула (Ib).

4. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ic),



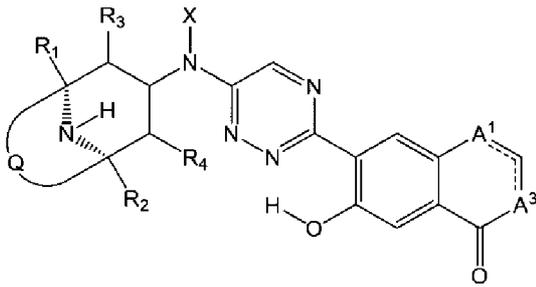
Формула (Ic).

5. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Id),



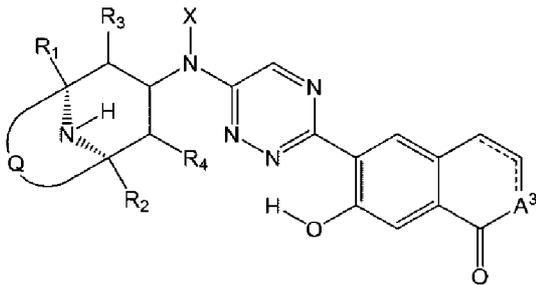
Формула (Id).

6. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ie),



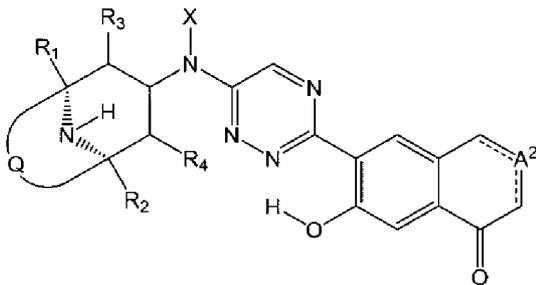
Формула (Ie).

7. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (If),



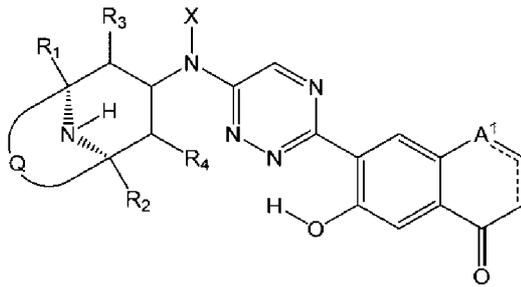
Формула (If).

8. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ig),



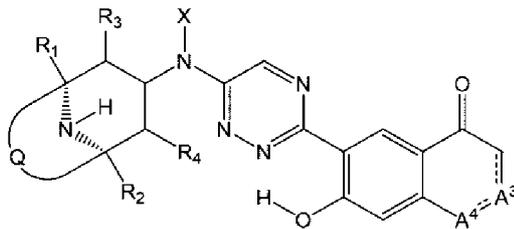
Формула (Ig).

9. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ih),



Формула (Ih).

10. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ii),



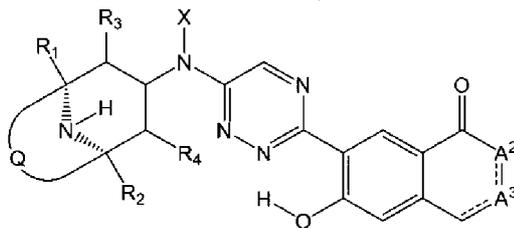
Формула (Ii).

11. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ij),



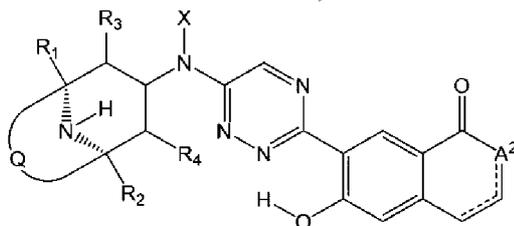
Формула (Ij).

12. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Ik),



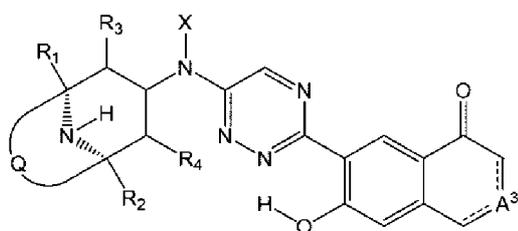
Формула (Ik).

13. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Il),



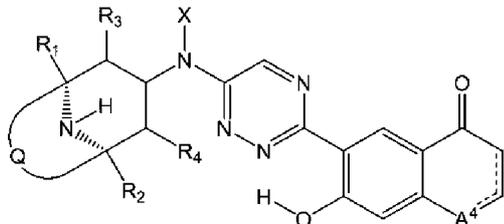
Формула (Il).

14. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Im),



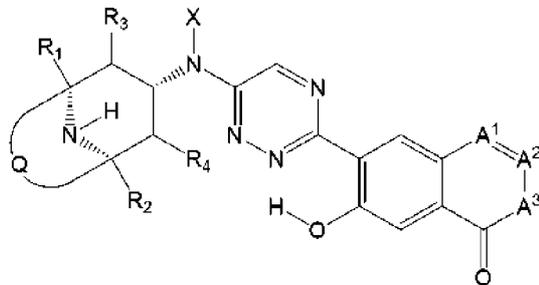
Формула (Im).

15. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (In),



Формула (In).

16. Соединение по п. 1, где соединение характеризуется структурой формулы (Iaa\*),



Формула (Iaa\*).

17. Соединение по любому из пп. 1-16, где по меньшей мере один из  $R_3$  или  $R_4$  представляет собой фтор.

18. Соединение по любому из пп. 1-17, где  $R_3$  представляет собой фтор, и  $R_4$  представляет собой водород.

19. Соединение по любому из пп. 1-17, где  $R_3$  представляет собой водород, и  $R_4$  представляет собой фтор.

20. Соединение по любому из п. 1, п. 2, п. 5, п. 6 или п. 9, где  $A^1$  представляет собой  $\text{CH}$ ,  $\text{CF}$ ,  $\text{C}(\text{CH}_3)$ ,  $\text{N}$ ,  $\text{O}$  или  $\text{C}(\text{=O})$ .

21. Соединение по любому из пп. 1-5, п. 8 или пп. 11-13, где  $A^2$  представляет собой  $\text{CH}$ ,  $\text{C}(\text{CH}_3)$ ,  $\text{N}$  или  $\text{C}(\text{CH}_3)$ .

22. Соединение по любому из пп. 1-4, п. 6, п. 7, п. 10, п. 12 или п. 14, где  $A^3$  представляет собой  $\text{CH}$ ,  $\text{C}(\text{CH}_3)$ ,  $\text{N}$  или  $\text{C}(\text{CH}_3)$ .

23. Соединение по любому из п. 1, п. 3, п. 10, п. 11 или п. 15, где  $A^4$  представляет собой  $\text{CH}$ ,  $\text{C}(\text{CH}_3)$ ,  $\text{N}$ ,  $\text{O}$  или  $\text{C}(\text{=O})$ .

24. Соединение по п. 1, где соединение содержит по меньшей мере 20 атомов углерода, 5 атомов азота и 1 атом фтора.

25. Соединение по п. 1, где один из  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$  и  $A^4$  представляет собой  $\text{C}(\text{=O})$ .

26. Соединение по любому из пп. 1-25, где  $R_1$  представляет собой водород или  $\text{CH}_3$ .

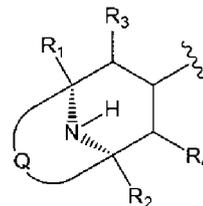
27. Соединение по любому из пп. 1-26, где  $R_2$  представляет собой водород или  $\text{CH}_3$ .

28. Соединение по любому из пп. 1-27, где Q представляет собой замещенный или незамещенный  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ алкилен.

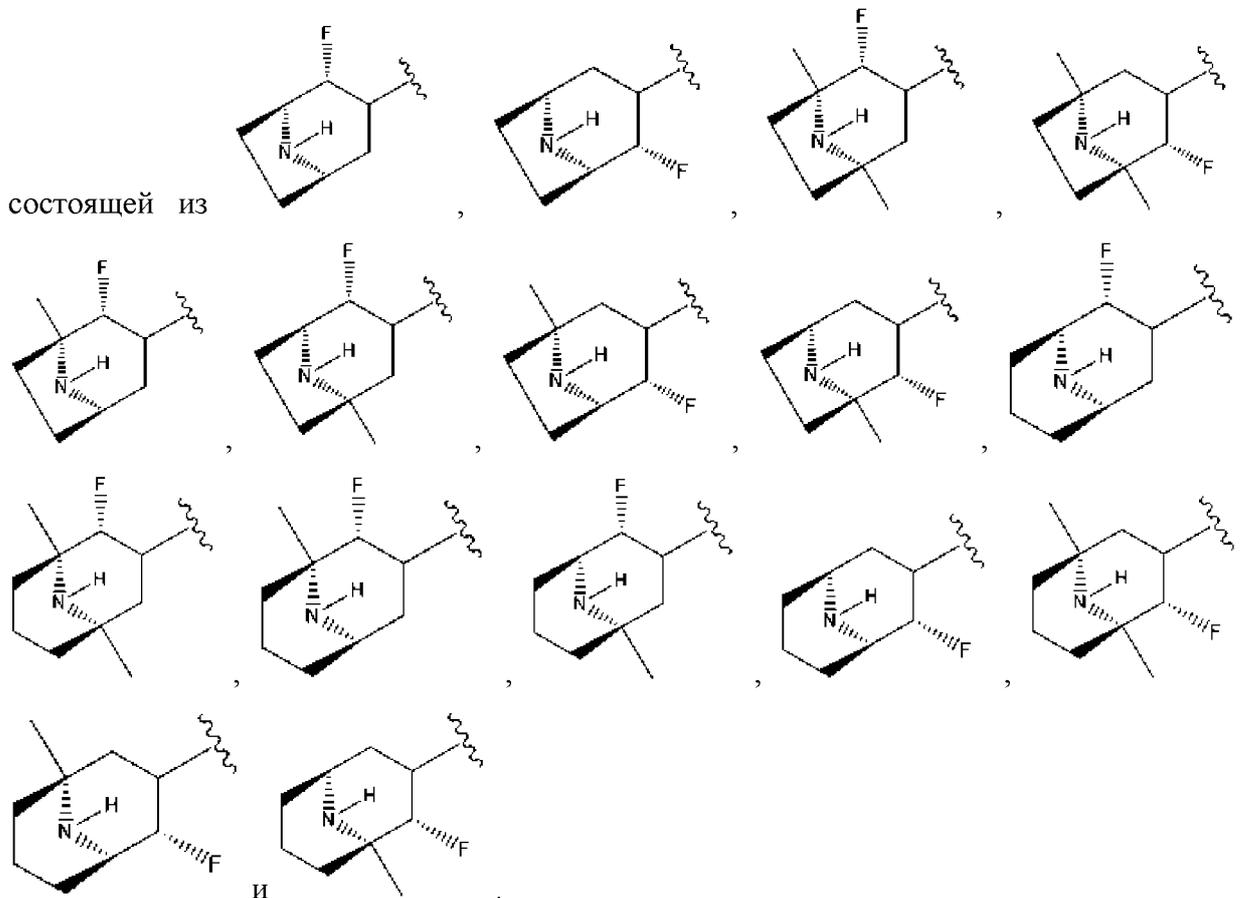
29. Соединение по п. 28, где Q представляет собой замещенный или незамещенный  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$ алкилен.

30. Соединение по п. 29, где Q представляет собой  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .

31. Соединение по п. 29, где Q представляет собой  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .



32. Соединение по любому из пп. 1-29, где выбран из группы,



33. Соединение по любому из пп. 1-32, где X представляет собой водород.

34. Соединение по любому из пп. 1-32, где X представляет собой  $-\text{CH}_3$ .

35. Соединение по любому из пп. 1-32, где X представляет собой замещенный или незамещенный  $\text{C}_3$ - $\text{C}_6$ циклоалкил.

36. Соединение по п. 35, где X представляет собой циклопропил.

37. Соединение по п. 1, где соединение выбрано из таблицы 1 или таблицы 2.

38. Фармацевтически приемлемые соль или сольват соединения по любому из предыдущих пунктов.

39. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-37 или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтически приемлемый сольват и фармацевтически приемлемые вспомогательное вещество или носитель.

40. Способ модулирования сплайсинга, включающий введение в клетки соединения по любому из пп. 1-38 или фармацевтической композиции по п. 39, где соединение модулирует сплайсинг в последовательности сайта сплайсинга pre-mRNA, которая кодирует мРНК, где мРНК кодирует целевой белок или функциональную РНК.

41. Способ лечения заболевания или состояния, включающий введение соединения по любому из пп. 1-38 или фармацевтической композиции по п. 39 субъекту, нуждающемуся в этом.

42. Применение соединения по любому из пп. 1-38 или фармацевтической композиции по п. 39 в изготовлении лекарственного препарата для лечения состояния или заболевания.

По доверенности