



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118261** (13) **C2**
(51) МПК (2018.01)
C07D 498/14 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

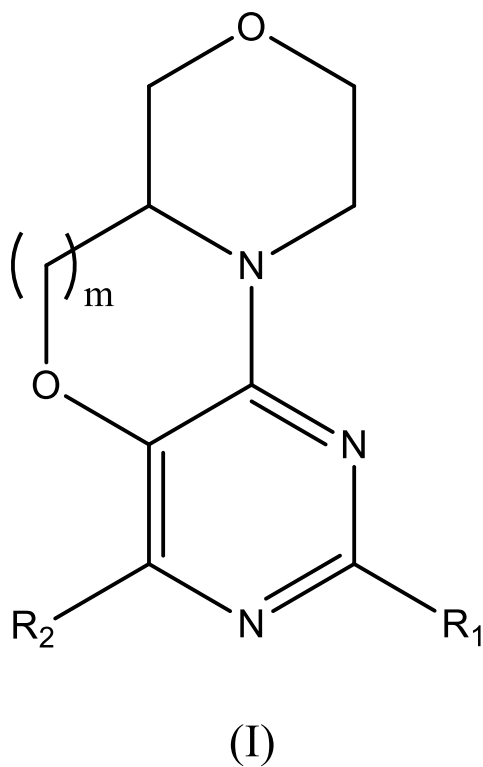
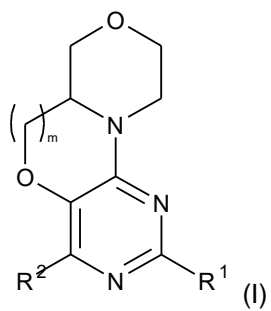
(21) Номер заявки: а 2015 10054	(72) Винахідник(и): Пастор Фернандес Хоакін (ES), Фернандес-Капетільо Руїс Оскар (ES), Мартінес Гонсалес Соня (ES), Бланко Апарісіо Кармен (ES), Ріко Ферейра Марія дель Росаріо (ES), Толедо Ласаро Луїс Ігнасіо (ES), Родрігес Арістегі Сонсолес (ES), Мурга Коста Матільде (ES), Варела Бусто Кармен (ES), Лопес Контрерас Андрес Хоакін (ES), Ренер Олівер (ES), Ньето Солер Марія (ES), Себріан Муньос Давід Альваро (ES)
(22) Дата подання заявки: 14.03.2014	(73) Власник(и): ФУНДАСЬОН СЕНТРО НАСІОНАЛЬ ДЕ ІНВЕСТІГАСЬОНЕС ОНКОЛОХІКАС КАРЛОС III, Melchor Fernández Almagro 3, Madrid E- 28029, Spain (ES)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.12.2018	(74) Представник: Слободянюк Алла Василівна, реєстр. №25
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 13382089.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012082997, A, 21.06.2012 LUIS I. TOLEDO et al. A cell-based screen identifies ATR inhibitors with synthetic lethal properties for cancer-associated mutations// NATURE STRUCTURAL & MOLECULAR BIOLOGY, (20110601), vol. 18, no. 6, pp. 721- 727 WARD I. M. et al. UV-induced Ataxia- telangiectasia-mutated and Rad3-related (ATR) Activation Requires Replication Stress// JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, (20040312), vol. 279, no. 11, pp. 9677-9680
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 15.03.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.01.2016, Бюл.№ 2	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.12.2018, Бюл.№ 24	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ PCT/GB2014/050825, 14.03.2014	

(54) ХІМІЧНІ СПОЛУКИ**(57) Реферат:**

Описані хімічні сполуки, вибрані з поміж сполук формули (I), де R₁, R₂ і m мають значення, перераховані в описі, та їх фармацевтично прийнятні солі, сольвати й стереоізмери, які є інгібіторами ATR і потенційно можуть застосовуватися в лікуванні ракових захворювань. Також описані фармацевтичні композиції даних хімічних сполук, комбіновані продукти, які містять дані

UA 118261 C2

хімічні сполуки, застосування описаних композицій як терапевтичних засобів, і способи лікування із застосуванням описаних композицій.



Галузь техніки, до якої відноситься винахід

Даний винахід стосується хімічних сполук, які проявляють протиракову активність, і конкретніше – до хімічних сполук, які інгібують ATR (атаксія-телеангіектазія й Rad3-споріднений білок). Даний винахід стосується також фармацевтичних композицій, які містять такі хімічні сполуки, та їх застосування.

Попередній рівень техніки

Трициклічні хімічні сполуки запропоновані даним винаходом є інгібіторами ATR і мають ряд терапевтичних застосувань, зокрема в лікуванні ракових захворювань.

Ракові захворювання є наслідком неконтрольованого росту клітин у багатьох різних тканинах. У багатьох випадках нові клітини проникають в існуючі тканини або дають метастази у віддалені органи. Ракові захворювання спостерігаються в широкому ряді органів і часто розвиваються специфічним чином, залежно від ураженої тканини. Тому термін «ракове захворювання» є узагальненим терміном, яке описує велику групу певних захворювань різних органів, тканин і типів клітин.

В 2008 році ракові захворювання були діагностовані в більш ніж 12 мільйонів людей в усьому світі. У тому ж році приблизно 7.5 мільйонів випадків смерті були спричинені цими захворюваннями (Globocan 2008 Report). Тільки в США в 2012 році прогнозувалося більше 1.6 мільйонів нових випадків і більше 500000 смертей внаслідок ракових захворювань. Більшість цих нових випадків відносяться до раку товстого кишківника (~100000), легенів (~230000), грудей (~230000) і простати (~240000) (American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2012).

Багато сучасних методів лікування рака, включаючи хіміотерапевтичні засоби й іонізуюче випромінювання, викликають пошкодження ДНК і порушення реплікативного розгалуження, тим самим активуючи шлях контрольних точок клітинного циклу й призводячи до зупинки клітинного циклу. Багато досліджень показали, що така відповідь є важливим механізмом, який дозволяє раковим клітинам вижити після лікування. Ці результати послужили поштовхом до розробки нових засобів, націлених на сигнальні шляхи відповіді на ушкодження ДНК.

ATR відноситься до родини фосфатиділінозитоло-кіназозв'язаних кіназ (PIKK) і активується при різних ушкодженнях ДНК. Зокрема, ATR необхідна при координації відповіді на реплікативний стрес (RS), яким називають патологічне накопичення одноланцюгової ДНК (ssDNA). Рекомбіногенна природа ssDNA призводить до хромосомних перебудов, які відрізняють ракові захворювання. У відповідь на RS, ATR запускає зупинку клітинного циклу на стадіях S і G2/M шляхом фосфорилування CHK1.

ATR може запобігати розвитку ракового захворювання, оскільки ATR відповідь у контрольній точці може обмежити експансію предраківих клітин, які переживають RS у результаті активації онкогена. Більше того, оскільки напрямок ATR-CHK1 контрольної точки призначений для виживання клітини після RS, нормальний і здоровий тип ATR-CHK1 контрольної точки може бути механізмом резистентності до хіміотерапії й може давати можливість раковим клітинам вижити при високих ендогенних рівнях RS.

Інгібування компонентів напрямку ATR-CHK1 потенційно може підвищити ефективність інгібіторів реплікації. Крім того, інгібування ATR може, зокрема, бути токсичним для клітин з високим рівнем RS, таких як клітини, які експресують онкогени або тих, які відчувають нестачу пухлинних супресорів. У таких клітинах сильне обмеження активності ATR (наприклад, при використанні інгібітору ATR) генерувало б летальні кількості RS, які призводять до загибелі клітин.

Потенційні переваги такої сенсibilізації клітин полягають в зниженні доз інгібіторів реплікації. Це може, серед іншого, зменшувати токсичність у відношенні гематологічної й шлунково-кишкової систем органів, якщо нормальні клітини не сенсibilізуються в такій же мірі. Специфічності інгібітора реплікації у відношенні загибелі ракових клітин може сприяти той факт, що клітини, які нетрансформувалися, мають більш стійкі контрольні точки S і G2, ніж клітини пухлин. Наприклад, багато видів ракових захворювань мають мутації за p53 або іншими компонентами сигнального шляху p53, що призводить до залежності від контрольних точок S і G2 у плані зупинки клітинного циклу, репаративного синтезу й виживання. Тому інгібуння контрольних точок S і G2 може призводити до загибелі бажано таких p53-дефіцитних пухлинних клітин.

Перерахування або обговорення раніше опублікованих документів у даному тексті не обов'язково слід уважати визнанням того, що такий документ є частиною попереднього рівня техніки або є загальновідомим фактом.

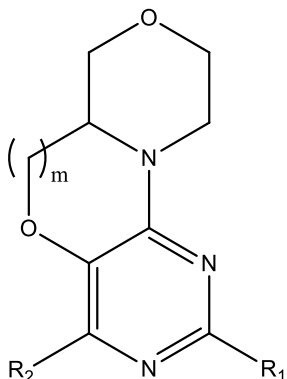
Спостерігається нестача ефективних інгібіторів ATR. Тому є потреба розробки хімічних сполук, які селективно інгібують ATR, для клінічного застосування або для подальшого дослідження ATR-відповіді.

Сутність винаходу

Даний винахід стосується серії трициклічних хімічних сполук, які є інгібіторами ATR. Ці хімічні сполуки демонструють високу селективність до ATR і потенційно можуть застосовуватися в лікуванні ракових захворювань. Даний винахід стосується також

5 фармацевтичних композицій із зазначеними хімічними сполуками, застосування даних композицій як терапевтичних засобів і способів лікування із застосуванням описаних композицій.

В одному аспекті, у даному винаході описані хімічні сполуки, обрані з поміж сполук формули (I)



(I)

де

R₁ обраний з поміж арилу й гетероарилу;

R₂ обраний з поміж NR₃SO₂R₃, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу;

де R₃ у кожному випадку незалежно обраний з поміж H, алкілу, циклоалкілу й

гетероциклоалкілу; і m дорівнює 1 або 2;

алкіл є лінійним насиченим вуглеводнем, який містить до 10 атомів вуглецю (C₁-C₁₀) або

розгалуженим насиченим вуглеводнем, який містить 3 - 10 (тобто від 3 до 10) атомів вуглецю (C₃-C₁₀);

циклоалкіл є моно- або біциклічним насиченим C₃-C₁₀ вуглеводнем, який може бути

необов'язково сполученим з арильною групою; або

циклоалкіл є адамантилом;

гетероциклоалкіл є C-зв'язаним або N-зв'язаним 10-членним насиченим моно- або біциклічним кільцем, яке містить 1, 2, 3 або 4 гетероатомів у циклі, незалежно обраних з поміж N, S і O, де атом N або S у циклі може мати як замісник атом кисню, формуючи N-оксидну,

сульфоксидну або сульфонову групу;

арил є фенілом, біфенілом або нафтилом; і

гетероарил є 5, 6, 9 або 10, 12, 13 або 14-членним моно- бі- або три-циклічним ароматичним кільцем, яке може містити 1, 2, 3 або 4 гетероатомів у циклі, незалежно обраних з поміж N, S і O;

та їх фармацевтично прийнятні солі, сольвати й стереоізомери.

Коли кожний з R₁, R₂ і R₃ обраний з поміж алкілу, циклоалкілу, гетероциклоалкілу, арилу й гетероарилу, відповідно до представленої вище формули (I), то така група може бути заміщеною або незаміщеною. Якщо група заміщена, то в цілому може бути присутнім від 1 до 5 замісників, бажано 1, 2 або 3 замісника.

Замісники для зазначених алкілу, гетероциклоалкілу, циклоалкілу, якщо не зазначено іншого, можуть бути незалежно обрані з поміж атома галогену, OH, CN, COOR₄, CF₃, NR₄R₄, NR₄COR₄, (NR₄)_nSO₂R₄, де n дорівнює 0 або 1, алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1,2 або 3 атомами галогену, і O-

алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або два замісники біля одного атома можуть бути об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з утворенням циклічної структури, обраної із поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, C(O)C₁-C₄ алкілу, C(O)O-(C₁-C₄ алкіл) і C₁-C₄ алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

де R₄ у кожному випадку незалежно обраний з поміж H, алкілу, арилу, гетероарилу, циклоалкілу й гетероциклоалкілу, де алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл і гетероциклоалкіл необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, обраними з поміж атома галогену, алкілу, O-

алкілу, $N(C_1-C_4\text{алкіл})_2$, $N(C_1-C_4\text{ алкіл})COC_1-C_4\text{алкілу}$, або дві групи R_4 у замісникові об'єднані з атомом(-ами), до яких вони приєднані, формуючи гетероциклоалкіл, необов'язково заміщений 1, 2 або 3 атомами галогену, або, коли замісник, який представляє собою R_4 групу, присутній в алкілі, циклоалкілі або гетероциклоалкілі, R_4 група об'єднана із замісником на цьому алкілі, циклоалкілі або гетероциклоалкілі з утворенням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

Замісники для зазначених арилу й гетероарилу можуть бути незалежно обрані з поміж атома галогену, OH, CN, $COOR_4$, CF_3 , NR_4R_4 , NR_4COR_4 , $(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, NHR_5 , алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, O-алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;

де R_5 незалежно обраний з поміж COалкілу, COарилу або COгетероарилу.

В одному варіанті здійснення даного винаходу, замісники для зазначених алкілу, гетероциклоалкілу, циклоалкілу, якщо не зазначено іншого, можуть бути незалежно обрані з поміж атома галогену, OH, CN, $COOR_4$, CF_3 , NR_4R_4 , NR_4COR_4 , $(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O-алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або два замісники біля одного атома можуть бути об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з утворенням циклічної структури, обраної з поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, і C_1-C_4 алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

Даний винахід охоплює всі таутомери, ізомери, стереоізомери (включаючи енантіомери, діастереомери й рацемічні й скалемічні суміші) описаних у даному тексті сполук формули (I), та їх фармацевтично прийнятні солі й проліки.

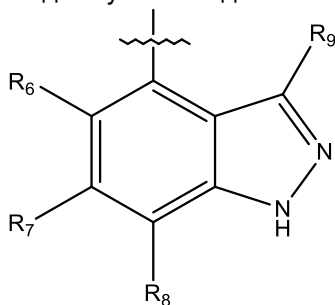
В іншому аспекті, у даному винаході описані N-оксиди описаних у даному тексті сполук формули (I), та їх таутомери, ізомери, стереоізомери (включаючи енантіомери, діастереомери й рацемічні й скалемічні суміші), а також з фармацевтично прийнятні солі й проліки.

Слід розуміти, що деякі хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можуть існувати в сольватованих, наприклад гідратованих, а також негідратованих формах. Слід розуміти, що даний винахід охоплює всі такі сольватовані форми.

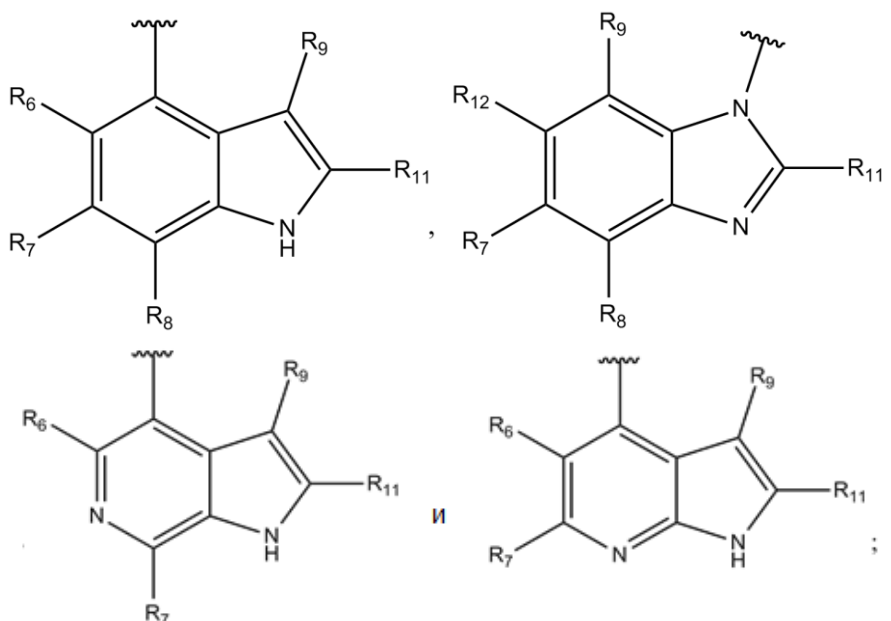
Даний винахід також охоплює представлені далі аспекти, альтернативи й комбінації. Переваги й опції для кожного окремого аспекту, відмінної особливості або параметра даного винаходу слід розуміти, якщо не зазначено іншого, як описані в комбінації з будь-яким і кожним перевагами й опціями для всіх інших аспектів, відмінних рис і параметрів даного винаходу. Наприклад, окремі визначення групи R_1 , подані в даному тексті, можуть комбінуватися з окремими визначеннями групи R_2 .

В одному аспекті даного винаходу, R_1 є гетероарилом. Зокрема, R_1 є біциклічним гетероарилом.

В одному аспекті даного винаходу, R_1 обраний з:



і, зокрема, з



де кожний з R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} незалежно обраний з поміж H, атома галогену, циклоалкілу, OH, CN, COOR₄, CF₃, NR₄R₄, NR₄COR₄, R₁₀ і OR₁₀, де R₁₀ є (C₁-C₆)алкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 атомами галогену.

Бажано, R_6 обраний з поміж атома галогену або H, краще F або H.

Бажано, R_7 , R_8 і R_9 кожний незалежно обраний з поміж CN або, зокрема, H, атома галогену, R₁₀ і OR₁₀, ще краще з поміж H, атома галогену і R₁₀.

Бажано, R_7 обраний з поміж атома галогену, (C₁-C₆)алкілу й O(C₁-C₆)алкілу, зокрема з атома галогену й O(C₁-C₆)алкілу, конкретніше з поміж атома галогену й OMe, конкретніше з F і OMe.

Бажано, R_7 обраний з поміж атома галогену, CN, O(C₁-C₆)алкілу й (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1 - 3 атомами галогену, зокрема з поміж атома галогену, CN, O(C₁-C₄)алкілу й (C₁-C₄)алкілу, необов'язково заміщеного 1 - 3 атомами галогену, конкретніше з поміж атома галогену, CN, Me, CF₃ і OMe, конкретніше з Cl, F, CN, Me, CF₃ і OMe.

Бажано, R_{11} обраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄, наприклад з морфолінілу, N(C₁-4алкіл)C₁-4алкілу, або зокрема H, (C₁-C₆)алкілу, NH₂, NHC₁-4алкілу й NHCOC₁-4алкілу, конкретніше з H, Me, NHMe, N(Me)₂, NEt, NH(ізо-пропіл), NH(н-пропіл), NH₂ і морфолін-4-іла. Ще краще, R_{11} обраний з поміж (C₁-C₆)алкілу, NR₄R₄ і NR₄COR₄, ще краще з NR₄R₄, зокрема з NHMe, N(Me)₂, NEt, NH(ізо-пропіл), NH(н-пропіл), NH₂ і морфолін-4-ілу.

Бажано, R_{12} обраний з поміж H, атома галогену, R₁₀ або OR₁₀, зокрема з H, атома галогену або R₁₀, або конкретніше з поміж H або R₁₀.

Зокрема, R_6 і R_9 кожний незалежно можуть бути обрані з поміж F або H;

R_7 і R_8 кожний незалежно можуть бути обрані з поміж H, атома галогену, R₁₀ і OR₁₀;

R_{11} може бути обраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄; і

R_{12} обраний з поміж H, атома галогену, R₁₀ або OR₁₀.

Альтернативно, R_6 і R_9 кожний незалежно можуть бути обрані з поміж F або H;

R_7 і R_8 кожний незалежно можуть бути обрані з поміж H, атома галогену, CN, R₁₀ і OR₁₀;

R_{11} може бути обраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄; і

R_{12} обраний з поміж H, атома галогену, R₁₀ або OR₁₀.

Альтернативно, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

R_7 , R_8 і R_9 кожний незалежно може бути обраний з поміж H, атома галогену, R₁₀ і OR₁₀;

R_{11} може бути обраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄;

де R₄ у кожному випадку незалежно обраний з поміж H або алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або групи R₄ об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

R_{12} може бути обраний з поміж H або R₁₀.

В іншому альтернативному варіанті, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

R_7 , R_8 і R_9 можуть бути кожний незалежно обраний з поміж H, атома галогену, CN, R₁₀ і OR₁₀;

R_{11} може бути обраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄;

де R₄ у кожному випадку незалежно обраний з поміж H або алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або групи R_4 об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

R_{12} може бути обраний з поміж H, атома галогену або R_{10} .

5 Зокрема, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

R_7 , R_8 і R_9 можуть бути кожний незалежно обраний з поміж H, атома галогену, (C_{1-6}) алкілу й $O(C_{1-6})$ алкілу;

R_{11} може бути обраний з поміж H, (C_{1-6}) алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 ;

де R_4 у кожному випадку незалежно обраний з поміж H або алкілу, необов'язково

10 заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або групи R_4 об'єднані з атомом(-ами) вуглецю, до яких вони приєднані, з утворенням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

R_{12} може бути обраний з поміж H, (C_{1-6}) алкілу або $O(C_{1-6})$ алкілу.

Альтернативно, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

15 R_7 , R_8 і R_9 можуть бути кожний незалежно обраний з поміж H, атома галогену, CN, $O(C_{1-6})$ алкілу й (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;

R_{11} може бути обраний з поміж H, (C_{1-6}) алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 ;

де R_4 у кожному випадку незалежно обраний з поміж H або алкілу, необов'язково

20 заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або групи R_4 об'єднані з атомом(-ами) вуглецю, до яких вони приєднані, з утворенням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

R_{12} може бути обраний з поміж H, атома галогену, (C_{1-6}) алкілу або $O(C_{1-6})$ алкілу.

Зокрема, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

R_7 , R_8 і R_9 можуть бути кожний незалежно обраний з поміж H, атома галогену, (C_{1-6}) алкілу й

25 $O(C_{1-6})$ алкілу;

R_{11} може бути обраний з поміж H, (C_{1-6}) алкілу, NH_2 , NHC_{1-4} алкілу й $NHCO(C_{1-4})$ алкілу; і

R_{12} може бути обраний з поміж H або R_{10} .

Альтернативно, R_6 може бути обраний з поміж атома галогену або H, зокрема з F або H;

R_7 , R_8 і R_9 можуть бути кожний незалежно обраний з поміж H, атома галогену, CN, $O(C_{1-6})$ алкілу й

30 (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;

R_{11} може бути обраний з поміж H, (C_{1-6}) алкілу, NH_2 , NHC_{1-4} алкілу, $N(C_{1-4}alkyl)_2$, морфолінілу й $NHCO(C_{1-4})$ алкілу; і

R_{12} може бути обраний з поміж H, атома галогену або R_{10} .

Альтернативно, R_6 , R_7 , R_8 , R_9 і R_{12} можуть бути H; і R_{11} може бути обраний з поміж (C_{1-6}) алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 , зокрема з NR_4R_4 , конкретніше з $NHMe$, $N(Me)_2$, NH_{et} , $NH(ізо-пропіл)$, $NH(н-пропіл)$, NH_2 і морфолін-4-ілу, конкретніше з $NHMe$;

де R_4 у кожному випадку незалежно обраний з поміж H або алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або групи R_4 об'єднані з атомом, до якого вони

приєднані, з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами

40 галогену.

Альтернативно, R_{11} може бути обраний з поміж (C_{1-6}) алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 ; присутній один з R_6 , R_7 , R_8 , R_9 і R_{12} і він не є H; решта R_6 , R_7 , R_8 , R_9 і R_{12} , якщо вони присутні, представлені H.

Альтернативно, R_6 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} можуть бути H; і R_7 може бути обраний з поміж атома галогену, (C_{1-6}) алкілу й $O(C_{1-6})$ алкілу, зокрема з поміж атома галогену й $O(C_{1-6})$ алкілу, конкретніше з поміж атома галогену й OMe .

В іншому альтернативному варіанті, R_6 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} можуть бути представлені H; і R_7 може бути обраний з поміж атома галогену, CN, $O(C_{1-6})$ алкілу й (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, зокрема з атома галогену, CN, Me, CF_3 і OMe .

50 Альтернативно, R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} можуть усі бути представлені H.

В одному аспекті даного винаходу, R_2 обраний з поміж $NR_4SO_2R_4$, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероциклоалкілу, де алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені 1, 2 або 3 замісниками, обраними з поміж 1, 2 або 3 замісників, обраних з $(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково

необов'язково заміщених 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену,

55 (C_{1-6}) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_{1-6})$ алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і додатково необов'язково заміщеного (і) 2 замісниками

біля одного атома, які об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної

структури, обраної з поміж циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними

60 з поміж атома галогену й C_1-C_4 алкілу, або (ii) замісником, який об'єднаний з однією із груп R_4 з

формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;

і де арил і гетероциклоалкіл необов'язково заміщені 1, 2 або 3 замісниками, обраними з 1, 2 або 3 замісників, обраних з поміж $(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково необов'язково заміщених 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, (C_1-C_6) алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3

атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

В іншому аспекті даного винаходу, R_2 обраний з поміж $NR_3SO_2R_3$, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу,

де алкіл і циклоалкіл необов'язково заміщені 1, 2 або 3 замісниками, обраними з поміж

$(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно

обраними з поміж атома галогену, (C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами

галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і додатково необов'язково заміщені (i) 2

замісниками біля одного атома, які об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням

циклічної структури, обраної з поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, які обидва необов'язково

заміщені 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, C_1-C_4 алкілу, $C(O)C_1-C_4$ алкілу й

$C(O)O-C_1-C_4$ алкілу, або (ii) замісником, який об'єднаний з однією із груп R_4 (у випадку наявності)

з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;

і де арил і гетероарил необов'язково заміщені 1, 2 або 3 замісниками, обраними з поміж

$(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно

обраними з поміж атома галогену, (C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами

галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

Зокрема, R_2 обраний з поміж $NR_4SO_2R_4$, алкілу й циклоалкілу, де алкіл і циклоалкіл

опціонально заміщені описаним у попередньому абзаці чином;

зокрема, де алкіл і циклоалкіл заміщені щонайменше одним замісником, обраним з

$(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, OH і CN, і де алкіл і циклоалкіл додатково необов'язково

заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, $COOR_4$, CF_3 ,

(C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або 2 замісниками біля одного атома, які об'єднані з

атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, обраної з поміж

циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з

поміж атома галогену й C_1-C_4 алкілу.

Зокрема, R_2 обраний з поміж $NR_3SO_2R_3$, алкілу й циклоалкілу, де алкіл і циклоалкіл

опціонально заміщені описаним у попередньому абзаці чином;

зокрема, де алкіл і циклоалкіл заміщені щонайменше одним замісником, обраним з поміж

$(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, OH і CN, і де алкіл і циклоалкіл додатково необов'язково

заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, $COOR_4$, CF_3 ,

(C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або 2 замісниками біля одного атома, які об'єднані з

атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, обраної з поміж

циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з

поміж атома галогену, C_1-C_4 алкілу, $C(O)C_1-C_4$ алкілу й $C(O)O-C_1-C_4$ алкілу.

Зокрема, R_2 може бути алкіл, заміщений щонайменше одним замісником, обраним з поміж

$(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково необов'язково заміщеним 1 або 2 замісниками, незалежно

обраними з поміж атома галогену, (C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами

галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу,

необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і додатково необов'язково заміщеного (i)

2 замісниками біля одного атома, які об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з

формуванням циклічної структури, обраної з поміж циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2

або 3 групами, обраними з поміж атома галогену й C_1-C_4 алкілу, або (ii) замісником, який

об'єднаний з однією із груп R_4 с формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2

або 3 атомами галогену.

Зокрема, R_2 може бути алкілом, заміщеним щонайменше одним замісником, обраним з

поміж $(NR_4)_nSO_2R_4$, OH і CN, і додатково необов'язково заміщеним 1 або 2 замісниками,

незалежно обраними з поміж атома галогену, (C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3

атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-$

$C_6)$ алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і додатково необов'язково

заміщеним (i) 2 замісниками біля одного атома, які об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, обраної з поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, які обидва необов'язково заміщені 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, C₁-C₄ алкілу, C(O)C₁-C₄ алкілу й C(O)O-C₁-C₄ алкілу, або (ii) замісником, який об'єднаний з однією із груп R₄ (у випадку наявності) з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

Зокрема, R₂ може бути (CH₂)_pC(R₁₃)₂(CH₂)_qQ, де Q є (NR₄)_nSO₂R₄, OH або CN, зокрема де Q є SO₂R₄, де p і q незалежно дорівнюють 0, 1 або 2, і де (i) R₁₃ незалежно обраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄)алкілу, зокрема де обидві R₁₃ групи представлені H, де обидві R₁₃ групи є метилом, або (ii) один R₁₃ обраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄)алкілу, а інший R₁₃ об'єднаний з R₄, у випадку його наявності, з формуванням 6-членного гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену й C₁-C₄ алкілу, або (iii) R₁₃ групи об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, обраної з поміж (C₃-C₆) циклоалкілу й 6-членного гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену й C₁-C₄ алкілу, зокрема циклопропанілу, тетрагідропіранілу, піперидинілу або N-метилпіперидинілу.

Зокрема, R₂ може бути (CH₂)_pC(R₁₃)₂(CH₂)_qQ, де Q є (NR₄)_nSO₂R₄, OH або CN, зокрема де Q є SO₂R₄, де p і q незалежно дорівнюють 0, 1 або 2, і де (i) R₁₃ незалежно обраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄)алкілу, зокрема де обидві R₁₃ групи представлені H, де обидві R₁₃ групи є метилом, або (ii) один R₁₃ обраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄)алкілу, а інший R₁₃ об'єднаний з R₄, у випадку його наявності, з формуванням 6-членного гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або (iii) групи R₁₃ об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, обраної з (C₃-C₆)циклоалкілом й 6-членим гетероциклоалкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, C₁-C₄ алкілу, C(O)C₁-C₄ алкілу й C(O)O-C₁-C₄ алкілу, зокрема циклопропанілу, циклобутилу, тетрагідропіранілу, піперидинілу, N-метилпіперидинілу або N-етоксикарбонілпіперидинілу.

Альтернативно, R₂ може бути обраний з поміж NR₃SO₂R₃.

У даному й інших аспектах даного винаходу, R₃ може бути представлений H або (C₁-C₄)алкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 атомами галогену, зокрема H або (C₁-C₄)алкілом, конкретніше H або Me.

У деяких аспектах даного винаходу, R₄ може бути (C₁-C₄) алкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 атомами галогену, або (C₃-C₆)циклоалкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 атомами галогену. Зокрема, R₄ може бути метилом, циклопропілом або трифторметилом.

В іншому аспекті даного винаходу, R₂ обрано з поміж (NR₄)_nSO₂R₄, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу, де алкіл, циклоалкіл, арил і гетероарил заміщені (NR₄)_nSO₂R₄,

і де алкіл і циклоалкіл додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, COOR₄, CF₃, (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O(C₁-C₆) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або двома замісниками на одному атомі, які об'єднані з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, з утворенням циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену й C₁-C₄ алкілу,

і де арил і гетероарил додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, COOR₄, CF₃, (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O(C₁-C₆) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

В іншому аспекті даного винаходу, R₂ обраний з поміж NR₃SO₂R₃, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу, де алкіл, циклоалкіл, арил і гетероарил заміщені (NR₄)_nSO₂R₄,

і де алкіл і циклоалкіл додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, COOR₄, CF₃, (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O(C₁-C₆) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або двома замісниками на одному атомі, які об'єднані з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, з утворенням циклоалкілу або гетероциклоалкілу, які обидва необов'язково заміщені 1, 2 або 3 групами, обраними з поміж атома галогену, C₁-C₄ алкілу, C(O)C₁-C₄ алкілу й C(O)O-C₁-C₄ алкілу,

і де арил і гетероарил додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, COOR₄, CF₃, (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O(C₁-C₆) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

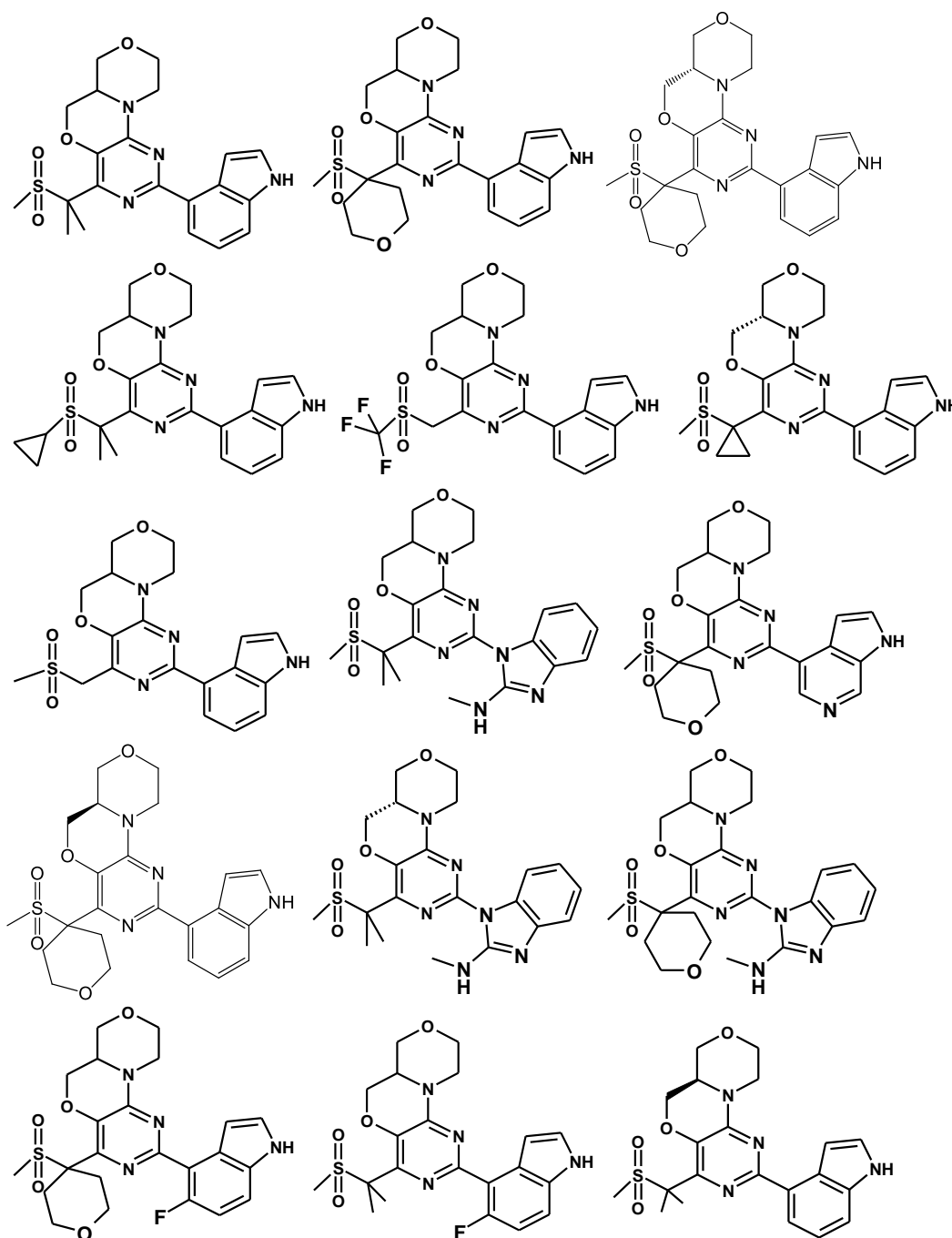
Наприклад, R_2 може бути обраний з поміж $NR_3SO_2R_3$, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу, де алкіл, циклоалкіл, арил і гетероарил заміщені $(NR_4)_nSO_2R_4$,

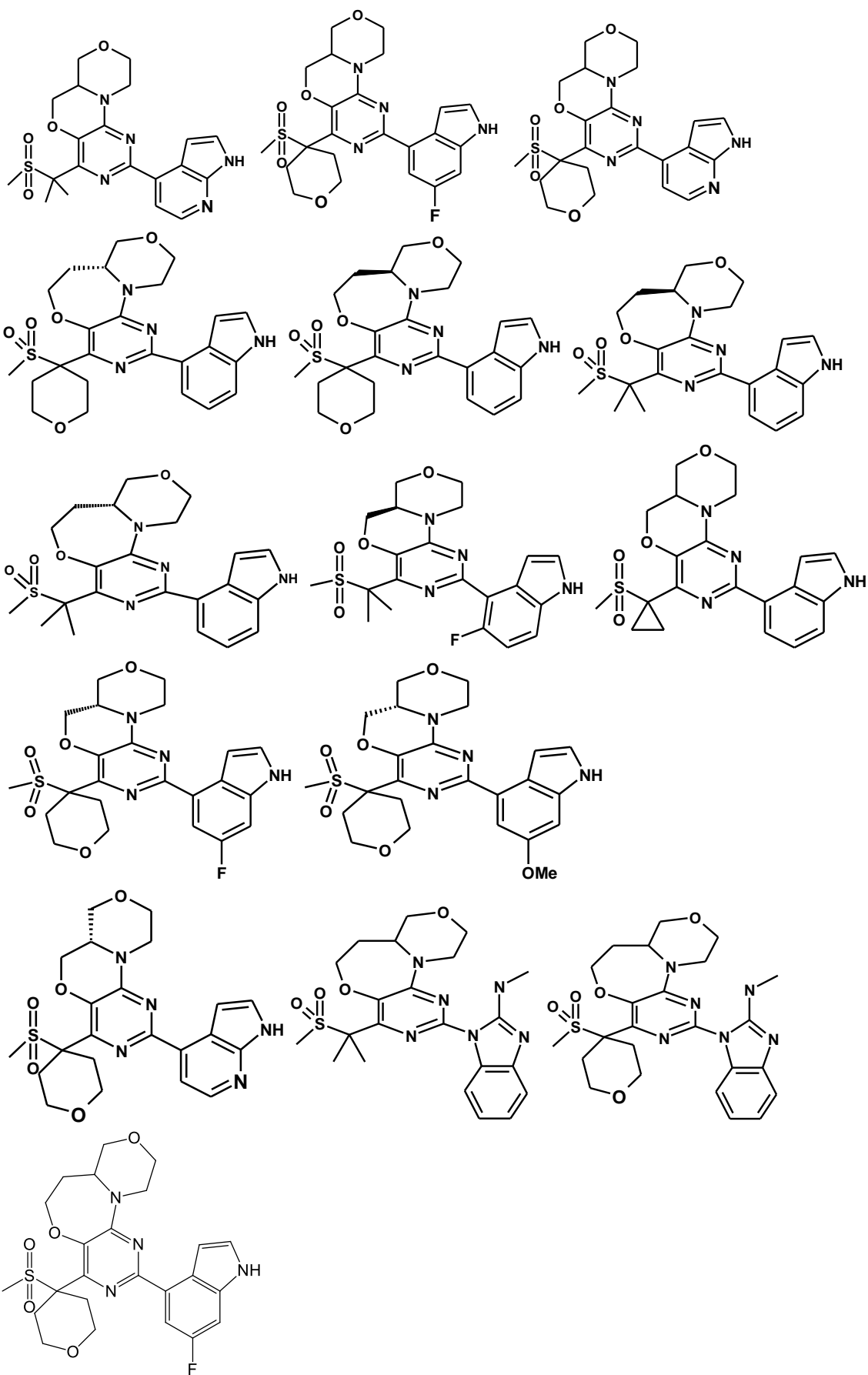
і де алкіл, циклоалкіл, арил і гетероарил додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно обраними з поміж атома галогену, CN, CF_3 , (C_1-C_6) алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і $O(C_1-C_6)$ алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.

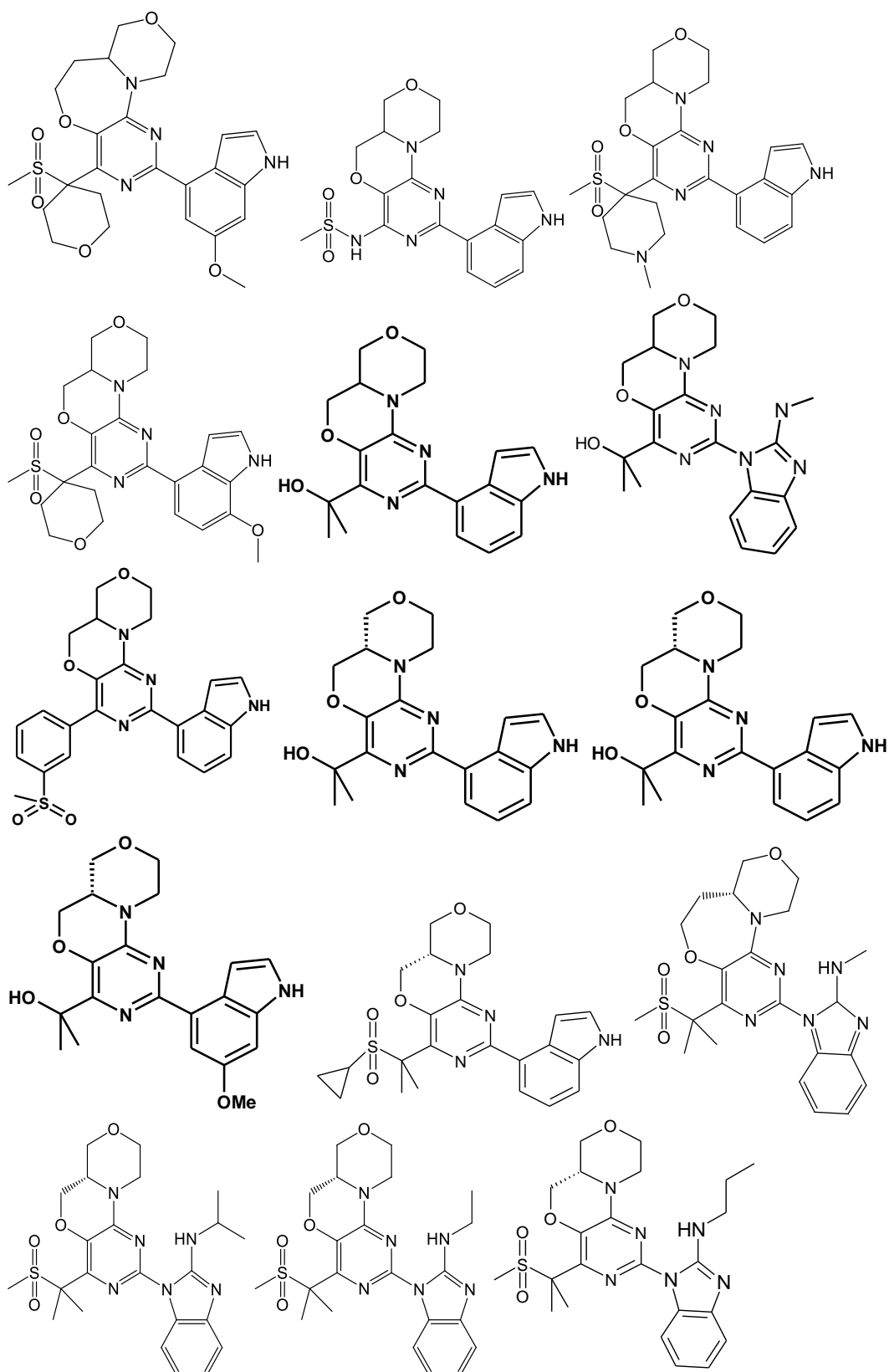
Сtereохімічна конфігурація хірального центру в хімічній сполуці формули (I) (тобто хірального центру, з'єднаного із групою $-(CH)_m-$) може бути S. Зокрема, коли n дорівнює 1, стереохімічна конфігурація хірального центру може бути S. Конкретніше, коли m дорівнює 1, стереохімічна конфігурація хірального центру може бути S.

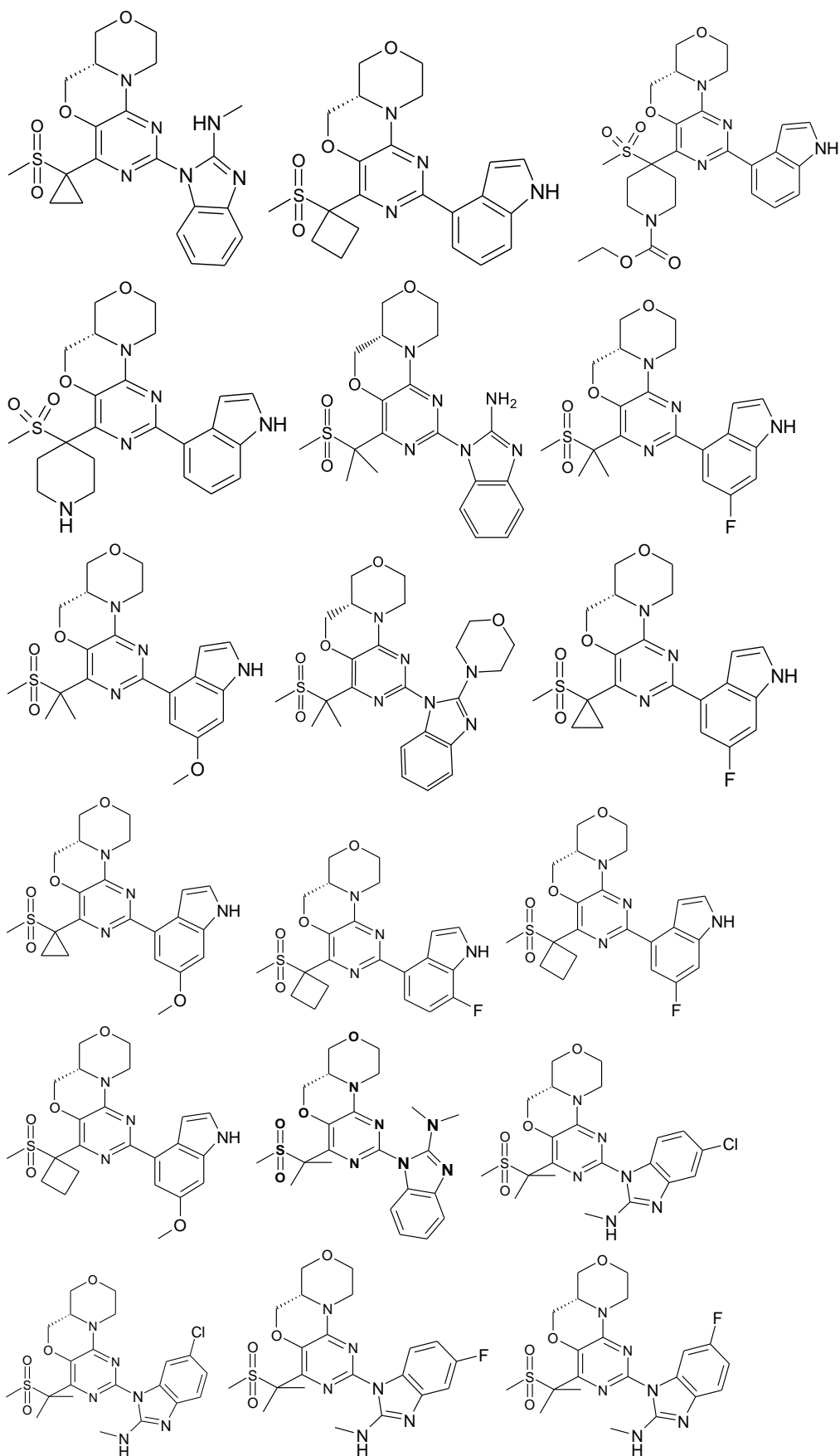
Сtereохімічна конфігурація хірального центру може бути R. Зокрема, коли n дорівнює 2, стереохімічна конфігурація хірального центру може бути R. Конкретніше, коли m дорівнює 2, стереохімічна конфігурація хірального центру може бути R.

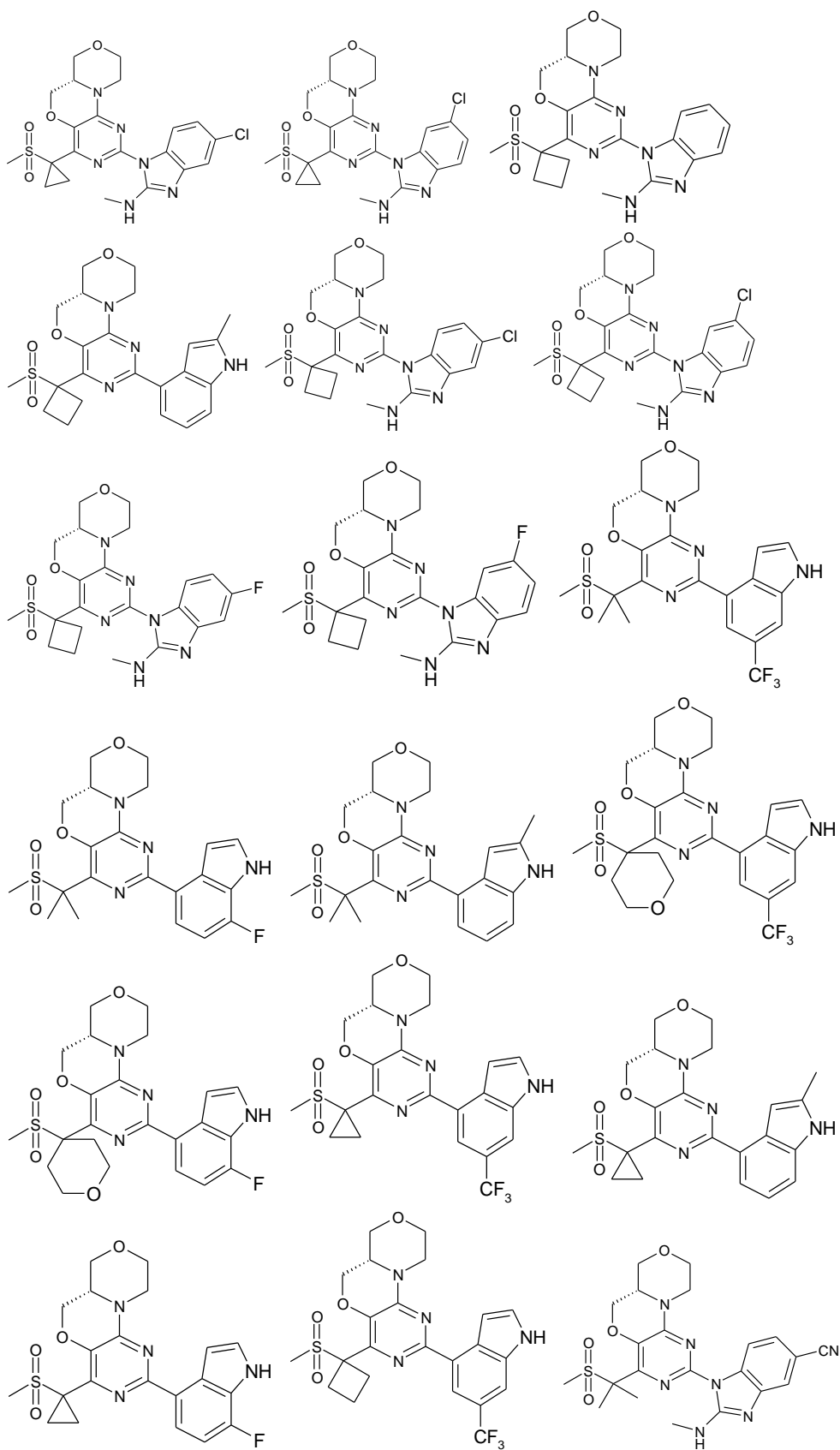
В одному аспекті, даний винахід охоплює сполуки, обрані із групи, яка складається з:

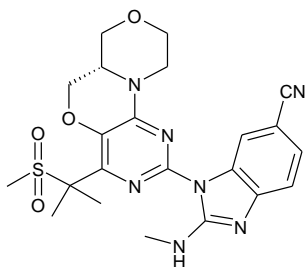












та їх таутомерів, фармацевтично прийнятних солей, сольватів і стереоізомерів.

Терапевтичні застосування

Як зазначено вище, хімічні сполуки запропоновані даним винаходом є ефективними й селективними інгібіторами ATR. Тому вони можуть застосовуватися в лікуванні захворювань, для яких причиною є гіперактивність ATR, або коли активність ATR, зокрема, необхідна для виживання нездорових клітин.

Відповідно, у даному винаході описана сполука формули (I) для використання в медицині.

У даному винаході також описане використання сполуки формули (I) для виробництва лікарського засобу для лікування або профілактики захворювання або стану, у яких задіяна активність ATR.

У даному винаході також описано сполуку формули (I) для використання в лікуванні або профілактиці захворювання або стану, у яких задіяна активність ATR.

У даному винаході також описаний спосіб лікування захворювання або стану, у яких задіяна активність ATR, який передбачає введення пацієнтові, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I).

В одному аспекті, захворювання або стан, у яких задіяна активність ATR, є раковим захворюванням.

В одному аспекті, захворювання або стан, у яких задіяна активність ATR, є раком легенів, раком простати, меланомою, раком яєчника, раком грудей, раком ендометрію, раком нирок, раком шлунка, саркомою, раком голови й шиї, пухлинами центральної нервової системи та їх метастазами, а також для лікування пацієнтів з гострим мієлоїдним лейкозом.

Інші захворювання і стани, у яких задіяна активність ATR, включають (але не обмежуються тільки ними) злоякісні захворювання системи крові, такі як лейкомія, множинна мієлома, лімфоми, такі як хвороба Ходжкіна, неходжкінські лімфоми (включаючи лімфому клітин мантиї), і мієлодиспластичний синдром, а також солідні пухлини та їх метастази, такі як рак груди, рак легенів (недрібноклітинний рак легенів (NSCLC), дрібноклітинний рак легенів (SCLC), плоскоклітинна карцинома), рак ендометрію, пухлини центральної нервової системи, такі як гліоми, дизембріопластична нейроепітеліальна пухлина, мультиформна гліобластома, змішані гліоми, медуллобластома, ретинобластома, нейробластома, гермінома й тератома, ракові захворювання шлунково-кишкового тракту, такі як рак шлунка, рак стравоходу, гепатоклітинна (печінкова) карцинома, холангіокарцинома, карцинома кишківника й прямої кишки, рак тонкого кишківника, рак підшлункової залози, ракові захворювання шкіри, такі як меланома (зокрема, метастатична меланома), рак щитовидної залози, ракові захворювання голови й шиї й рак слинних залоз, простати, яєчок, яєчника, рак шийки матки, рак матки, рак вульви, рак сечового міхура, рак нирок (включаючи нирково-клітинну карциному, світлоклітинну й ренальну онкоцитому), плоскоклітинний рак, саркоми, такі як остеосаркома, хондросаркома, лейоміосаркома, саркома м'яких тканин, саркома Юінґа, гастроінтестинальна стромальна пухлина (GIST), саркома Капоші й дитячі ракові захворювання, такі як рабдоміосаркома й нейробластома.

Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна вводити в комбінації з іншими терапевтичними засобами. Зокрема, хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна вводити в комбінації із цитотоксичними засобами. При використанні комбінованої терапії, хімічні сполуки запропоновані даним винаходом й зазначені агенти, які застосовуються в комбінації, можуть бути присутніми у складі однієї або різних фармацевтичних композицій, і можуть вводитися окремо, послідовно або одночасно. Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом й інші терапевтичні засоби можуть бути присутніми у комбінації в будь-якому співвідношенні. Наприклад, комбінований продукт може містити від 0.01 ваг.% до 99.99 ваг.% хімічних сполук запропонованих даним винаходом, і може також містити від 0.01 ваг.% до 99.99 ваг.% інших терапевтичних засобів.

Придатні агенти для використання в комбінації включають наступні:

(i) антипроліферативні/протипухлинні лікарські засоби та їх комбінації, які застосовуються в медичній онкології, такі як метилуючі агенти (наприклад, цис-платин, карбоплатин,

циклофосфамід, азотистий іприт, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан і нітрозосечовини); антиметаболіти (наприклад, антифолати, такі як фторпіримідини, наприклад 5-фторурацил і тегафур, ратитрексед, метотрексат, цитозин арабінозид, гідроксисечовина й гемцитабін); протипухлинні антибіотики (наприклад, антрацикліни, такі як адриаміцин, блеоміцин, доксорубіцин, дауноміцин, епірубіцин, ідарубіцин, мітоміцин-С, дактиномицин і мітраміцин); антимітотичні засоби (наприклад, алкалоїди барвінку, такі як вінкристин, вінбластин, віндезин і вінорелбін, і таксоїди, такі як паклітаксел і таксотер); і інгібітори топоізомерази (наприклад, епіподофілотоксини, такі як етопозид і теніпозид, амсакрин, топотекан і камптотецини);

(ii) цитостатичні агенти, такі як антиестрогени (наприклад, тамоксифен, тореіфен, ралоксифен, дролоксифен і йодоксифен), інгібітори естрогенового рецептора (наприклад, фулвестрант), антиандроگени (наприклад, бікалутамід, флутамід, нілутамід і ципротерону ацетат), LHRH антагоністи або LHRH агоністи (наприклад, гoserелін, лейпрорелін і бусерилін), прогестогени (наприклад, мегестрола ацетат), інгібітори ароматази (наприклад, анастрозол, летрозол, воразол і ексеместан) та інгібітори 5 α -редуктази, такі як фінастерид;

(iii) антиінвазійні агенти (наприклад інгібітори родини c-Src кіназ, такі як 4-(6-хлор-2,3-метилендіоксианіліно)-7-[2-(4-метилпіперазин-1-іл)етокси]-5-тетрагідропіран-4-ілоксихіназолін (AZD0530; Міжнародна заявка на патент WO 01/94341) і N-(2-хлор-6-метилфеніл)-2-{6-[4-(2-гідроксиетил)піперазин-1-іл]-2-метилпіримідин-4-іламіно}тіазол-5-карбоксамід (дасатиніб, BMS-354825; J. Med. Chem. 2004, 47, 6658-6661), та інгібітори металопротеаз, такі як маримастат і інгібітори рецептора активатора плазміногену урокіназного типу);

(iv) інгібітори фактора росту: наприклад, такі інгібітори включають антитіла до фактора росту й антитіла до рецептора гормону росту (наприклад, анти-erbB2 антитіло трастузумаб [ГерцептинTM] і анти-erbB1 антитіло цетуксимаб [C225]); такі інгібітори включають також, наприклад, інгібітори тирозинкіназ, наприклад, інгібітори родини фактора росту епідермісу (наприклад, інгібітори родини EGFR тирозинкіназ, такі як N-(3-хлор-4-фторфеніл)-7-метокси-6-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-амін (гефітиніб, ZD 1839), N-(3-етинілфеніл)-6,7-біс(2-метоксиетокси)хіназолін-4-амін (ерлотиніб, OSI-774) і 6-акриламід-N-(3-хлор-4-фторфеніл)-7-(3-морфолінопропокси)хіназолін-4-амін (CI 1033) та інгібітори erbB2 тирозинкінази, такі як лапатиніб), інгібітори родини фактора росту гепатоцитів, інгібітори родини фактора росту тромбоцитів, такі як іматиніб, інгібітори серин/треонін кіназ (наприклад, інгібітори Ras/Raf сигнального шляху, такі як інгібітори фарнезил трансферази, наприклад сорафеніб (BAY 43-9006)) і інгібітори системи клітинних сигналів через MEK і/або через PI3K, mTOR і AKT кіназний шлях;

(v) антиангіогенні агенти, такі як що інгібують дію фактора росту судинного ендотелію [наприклад, антитіло до фактора росту судинного ендотелію бевацизумаб (Avastintm) і інгібітори VEGF рецепторної тирозинкінази, такі як 4-(4-бром-2-фтораніліно)-6-метокси-7-(1-метилпіперидин-4-ілметокси)хіназолін (ZD6474; Приклад 2 в WO 01/32651), 4-(4-фтор-2-метиліндол-5-ілокси)-6-метокси-7-(3-піролідін-1-ілпропокси)хіназолін (AZD2171; Приклад 240 в WO 00/47212), ваталаніб (PTK787; WO 98/35985) і Sul 1248 (сунітиніб; WO 01/60814), і сполуки, які працюють за іншими механізмами (наприклад, ліномід, інгібітори роботи інтегрину $\alpha v \beta 3$ і ангіостатин)];

(vi) судино-вражаючі агенти, такі як комбретастатин A4 і сполуки, описані в Міжнародних заявках на патент WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 і WO 02/08213;

(vii) засоби антизначенневої терапії, наприклад, націлені на перераховані вище мішені, такі як ISIS 2503, анти-gas антизначенневий засіб;

(viii) підходи генної терапії, включаючи методи заміни аберантних генів, таких як аберантний p53 або аберантний BRCA1 або BRCA2, GDEPT (націлений на гени ферментна пролікарська терапія), наприклад з використанням цитозин деамінази, тимідин кінази або бактеріальної нітроредуктази, і підходи з підвищенням толерантності пацієнта до хіміотерапії або радіотерапії, такі як генна терапія мультирезистентності;

(ix) імунотерапевтичні методи, включаючи ex-vivo і in-vivo підходи для збільшення імуногенності пухлинних клітин пацієнта, такі як трансфекція цитокінів, таких як інтерлейкін 2, інтерлейкін 4 або гранулоцитарно-маркрофагальний колонієстимулюючий фактор, способи зменшення енергії Т-клітин, підходи з використанням трансфікованих імунних клітин, таких як цитокін-трансфіковані дендритні клітини, підходи з використанням цитокін-трансфікованих пухлинних клітин і підходи з використанням анти-ідіопатичних антитіл; і

(x) хроматин-модифікуючі агенти дозволяють скасувати епігенетичні зміни, які беруть участь у канцерогенезі, наприклад, ДНК-деметилуючі агенти, такі як 5'-азацитидин і децитабін (5-аза-2'-деоксцитидин, дезоцитидин) та інгібітори деацетилази, такі як вориностат (субероіланілід

гідроксамової кислоти, Золінза) і депсипептид (ромідепсин, Істодакс).

В іншому аспекті даного винаходу, описано комбінований продукт, який містить:

(А) сполуку формули (I) або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват або стереоізомер, як описано вище; і

5 (В) інший терапевтичний засіб, який можна застосовувати у лікуванні раку й/або проліферативного захворювання,

де кожний з компонентів (А) і (В) входить до складу препарату разом з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм.

10 Такі комбіновані продукти служать для введення сполуки запропонованої даним винаходом разом з іншим терапевтичним засобом, і можуть мати вигляд роздільних препаратів, де щонайменше один із препаратів містить сполуки запропоновані даним винаходом, і щонайменше один містить інший терапевтичний засіб, або вони можуть бути представлені (тобто мати вигляд) комбінованого препарату (тобто представленого у вигляді одного препарату, який містить сполуки запропоновані даним винаходом й інший терапевтичний засіб).

15 Таким чином, у даному винаході також описаний:

(1) фармацевтичний препарат, який містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват або стереоізомер, як описаний вище, інший терапевтичний засіб, який можна застосувати у лікуванні раку й/або проліферативного захворювання, і фармацевтично прийнятний ад'ювант, розріджувач або носій; і

20 (2) набір із частин, який містить компоненти:

(а) фармацевтичний препарат, який містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват або стереоізомер, як описано вище, у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм; і

25 (b) фармацевтичний препарат, який містить інший терапевтичний засіб, який можна застосувати у лікуванні раку й/або проліферативного захворювання, у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм,

де компоненти (а) і (b) кожний представлені у формі, придатній для введення один з одним.

У даному винаході також описаний спосіб одержання описаного вище комбінованого продукту, який передбачає поєднання сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату або стереоізомера, як описано вище, з іншим терапевтичним засобом, який можна застосувати у лікуванні раку й/або проліферативного захворювання, і щонайменше одного фармацевтично прийнятного ад'юванта, розріджувача або носія.

Під "поєднанням" у даному описі розуміють, що два зазначені компоненти переходять у стан, придатний для їхнього спільного введення.

35 Так, відносно способу одержання згаданого вище набору із частин, термін «об'єднання» двох компонентів означає, що зазначені два компоненти набору із частин можуть бути:

(i) виготовлені у вигляді окремих препаратів (тобто незалежних один від одного), які згодом поєднуються у ході комбінованої терапії; або

40 (ii) упаковані й випущені разом як окремі компоненти "комбінованого набору" для спільного застосування в ході комбінованої терапії.

Визначення

Термін "алкіл" охоплює залишки насичених вуглеводнів, включаючи:

45 - лінійні групи, які містять 1 - 10 атомів вуглецю (C_1 - C_{10}), або 1 - 6 атомів вуглецю (C_1 - C_6), або 1 - 4 атомів вуглецю (C_1 - C_4). Приклади таких алкільних груп включають (але не обмежуються тільки ними) C_1 (метил), C_2 (етил), C_3 (пропіл) і C_4 (бутил);

50 - розгалужені групи, які містять від 3 до 10 (тобто 3 - 10) атомів вуглецю (C_3 - C_{10}), або до 7 атомів вуглецю (C_3 - C_7), або до 4 атомів вуглецю (C_3 - C_4). Приклади таких алкільних груп включають (але не обмежуються тільки ними) C_3 (1-метилетил), C_4 (1-метилпропіл, 2-метилпропіл, 1,1-диметилетил) і C_5 (1,1-диметилпропіл, 2,2-диметилпропіл, 3-метилбутил, пентан-2-іл, пентан-3-іл),

кожна з яких опціонально заміщена, як описано вище.

Якщо не зазначено іншого, галоген обраний з поміж F, Cl, Br і I; зокрема, галоген є F.

55 Циклоалкіл відповідає даному вище визначенню. Циклоалкільні групи можуть містити від 3 до 10 атомів вуглецю, або від 4 до 10 атомів вуглецю, або від 5 до 10 атомів вуглецю, або від 3 до 6 атомів вуглецю. Приклади придатних моноциклічних циклоалкільних груп включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил і циклогептил. Приклади придатних біциклічних циклоалкільних груп включають декагідронафталін і октагідро-1H-інден. Циклоалкіл може бути сполучений з арилом. Приклади придатних циклоалкільних груп, у випадку сполучення з арилом, включають інданіл і 1,2,3,4-тетрагідронафтил.

60 Гетероциклоалкіл є C-зв'язаним або N-зв'язаним 10-членним насиченим моно- або

біциклічним кільцем, де зазначене гетероциклоалкільне кільце може містити 1, 2, 3 або 4 гетероатомів, незалежно обраних з поміж S, N і O, де атом N або S у циклі може мати як замісник атом кисню, формуючи N-оксидну, сульфоксидну або сульфонову групу. Приклади придатних гетероциклоалкільних груп включають тетрагідротіофен і, зокрема, оксираніл, азиридиніл, азетидиніл, тетрагідрофураніл, піролідиніл, тетрагідропіраніл, піперидиніл, N-метилпіперидиніл, морфолініл, N-метилморфолініл, піперазиніл, N-метиліспразиніл, азебаніл, оксазебаніл і діазебаніл.

Арил відповідає даному вище визначенню. У типовому випадку, арил необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками. Опціональні замісники обрані з перерахованих вище. Приклади придатних арильних груп включають феніл і нафтил (кожний з яких опціонально заміщений, як описано вище).

Гетероарил відповідає даному вище визначенню. У типовому випадку, гетероарильні групи містять 5, 6, 9, 10, 12, 13 або 14 членів у циклі, де 1, 2, 3 або 4 членів циклу незалежно обрані з поміж O, S і N. В одному варіанті здійснення, гетероарильна група може бути 5, 6, 9 або 10-членним, наприклад, 5-членним моноциклічним, 6-членним моноциклічним, 9-членним сполученим біциклічним або 10-членним сполученим біциклічним кільцем.

Моноциклічні гетероароматичні групи включають гетероароматичні групи, які містять 5-6 членів у циклі, де 1, 2, 3 або 4 членів у циклі незалежно обрані з поміж O, S і N.

Приклади придатних гетероарильних груп включають індазоліл, піролопіридиніл і, зокрема, тієніл, фураніл, піроліл, піразоліл, імідазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, триазоліл, оксадіазоліл, тіадіазоліл, тетразоліл, піридиніл, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, індоліл, бензімідазоліл, бензотриазоліл, хінолініл і ізохінолініл (необов'язково заміщені, як описано вище).

Термін "С-зв'язаний", наприклад як в "С-зв'язаний гетероциклоалкіль", означає, що гетероциклоалкільна група з'єднана з іншою частиною молекули через атом вуглецю в циклі.

Термін "N-зв'язаний", наприклад як в "N-зв'язаний гетероциклоалкіль", означає, що гетероциклоалкільна група з'єднана з іншою частиною молекули через атом азоту в циклі.

Термін "О-зв'язаний", наприклад як в "О-зв'язаний залишок вуглеводню", означає, що залишок вуглеводню з'єднаний з іншою частиною молекули через атом кисню.

"Фармацевтично прийнятна сіль" означає фізіологічно або токсикологічно прийнятну сіль і включає, де це може бути застосованим, фармацевтично прийнятні основно-адитивні солі й фармацевтично прийнятні кислотно-адитивні солі. Наприклад (i) коли сполука запропонована даним винаходом містить одну або більше кислотних груп, наприклад карбокси-груп, то здатні до формування фармацевтично прийнятні основно-адитивні солі включають солі натрію, калію, кальцію, магнію й амонію, або солі з органічними амінами, такими як диетиламін, N-метилглюкамін, диетаноламін або амінокислоти (наприклад, лізин) тощо; (ii) коли сполука запропонована даним винаходом містить основну групу, таку як аміногрупа, то здатні до формування фармацевтично прийнятні кислотно-адитивні солі включають гідрохлориди, гідроброміди, сульфати, фосфати, ацетати, цитрати, лактати, тартрати, мезилати, сукцинати, оксалати, фосфати, езилати, тозилати, бензосульфони, нафталіндисульфони, малеати, адипати, фумарати, гіпурати, камфорати, ксинафоати, п-ацетамідобензоати, дигідроксибензоати, гідроксинафтоати, сукцинати, аскорбати, олеати, бісульфати тощо.

Також можуть формуватися напівсолі кислот і основ, наприклад, гемісульфати й гемікальцієві солі.

Огляд придатних солей дивитись в книзі "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-vch, Weinheim, Germany, 2002). "Проліками" називають сполуку, яка може перетворюватися in vivo метаболічно (наприклад, шляхом гідролізу, відновлення або окиснення) на сполуки запропонована даним винаходом. Придатні групи для формування проліків описані в роботі "The Practice of Medicinal Chemistry", 2nd Ed. pp561-585 (2003) і в роботі F. J. Leinweber, Drug Metab. Res., 1987, 18, 379.

Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можуть існувати як у несольватованій, так і в сольватованій формах. Термін «сольват» застосовується в даному тексті для позначення молекулярного комплексу, який містить сполуки запропоновані даним винаходом й стехіометричну кількість однієї або більше молекул фармацевтично прийнятного розчинника, наприклад, етанолу. Термін «гідрат» використовують у випадку, коли розчинником є вода.

Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом існують в одній або більше геометричних, оптичних, енантімерних, діастереомерних і таутомерних формах, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) цис- і транс-форми, E- і Z-форми, R-, S- і мезо-форми, кето- і енольні форми. Якщо не зазначено іншого, згадування конкретної сполуки включає всі такі ізомерні форми, включаючи їх рацемічні й інші суміші. Де це може бути прийнятим, такі ізомери можна

виділяти з їхніх сумішей, застосовуючи або адаптуючи відомі методи (наприклад, хроматографічні методики й методики перекристалізації). Де це може бути прийнятним, такі ізомери можна одержувати, застосовуючи або адаптуючи відомі методи (наприклад, асиметричний синтез).

- 5 У контексті даного винаходу, згадування "лікування" відноситься до радикального, паліативного й профілактичного лікування.

Загальні методи

- Хімічні сполуки формули (I) необхідно оцінити за їх біофармацевтичними властивостями, такими як розчинність і стійкість у розчині (за різних значень pH), проникність і тощо, для підбору найбільш придатних дозованих форм і способу введення для лікування при зазначених показаннях. Їх можна вводити окремо або в комбінації з однією або більше іншими хімічними сполуками запропонованими даним винаходом або в комбінації з одним або більше іншими лікарськими засобами (або з будь-якими їхніми комбінаціями). У цілому, їх водять у вигляді препарату разом з одним або більше фармацевтично прийнятними наповнювачами. Термін «наповнювач» використовується в даному тексті для опису будь-якого інгредієнта, відмінного від сполуки(к) запропонованої даним винаходом, яка можуть обумовлювати функціональні (тобто контроль швидкості вивільнення лікарського засобу) і/або нефункціональні (тобто допоміжна речовина або розріджувач) характеристики препаратів. Вибір наповнювача великою мірою залежить від таких факторів, як конкретний спосіб уведення, вплив наповнювача на розчинність і стійкість, і природа дозованої форми.

- Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом, призначені для застосування у фармацевтиці, можна вводити у твердому або рідкому вигляді, такому як таблетки, капсули або розчин. Фармацевтичні композиції, придатні для введення хімічних сполук запропонованих даним винаходом, і методи їх приготування будуть очевидними для кваліфікованих фахівців у даній галузі. Такі композиції й методи їх приготування можна знайти, наприклад, у книзі Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995).

- Відповідно, у даному винаході описана фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули (I) і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач. Сполука формули (I) (або його фармацевтично прийнятна сіль, сольват або стереоізомер) і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач можуть бути присутніми у композиції в будь-якому співвідношенні. Наприклад, фармацевтична композиція може містити від 0.01 ваг.% до 99.99 ваг.% сполуки формули (I), і, аналогічно, може містити від 0.01 ваг.% до 99.99 ваг.% фармацевтично прийнятного носія, розріджувача або наповнювача. Коли *m* дорівнює 1, (S)-енантіомер сполуки формули (I) може бути присутнім у композиції з енантіомерним надлишком 90% або більше, бажано, з енантіомерним надлишком 95% або більше. Коли *m* дорівнює 2, (R)-енантіомер сполуки формули (I) може бути присутнім у композиції з енантіомерним надлишком 90% або більше, бажано, з енантіомерним надлишком 95% або більше.

- Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна вводити також прямо в кровоносну систему, у підшкірну тканину, у м'яз або у внутрішній орган. Придатні методи парентерального введення включають внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, інтраперитонеальне, інтратекальне, інтравентрикулярне, інтрауретральне, внутрішньогрудинне, внутрішньочерепне, внутрішньом'язове, внутрішньосуглобне й підшкірне. Придатні обладнання для парентерального введення включають ін'єкційні обладнання з голкою (включаючи мікроголку), безголкові обладнання для ін'єкцій і інфузійні методи.

- Парентеральні препарати звичайно є водними або олійними розчинами. Якщо розчин водний, застосовують такі наповнювачі, як цукри (включаючи, але не обмежуючись тільки ними: глюкоза, маніт, сорбіт тощо), солі, вуглеводи й буферні агенти (бажано для підтримування pH від 3 до 9), але в деяких галузях застосування більш придатними препаратами є стерильні неводні розчини або сухі форми для використання разом з придатним носієм, таким як стерильна апірогенна вода.

- Парентеральні препарати можуть включати імпланти з полімерів, здатних розкладатися, таких як полієфіри (тобто полімолочна кислота, полілактид, полілактид-спів-гліколід, полікапролактон, полігідроксибутират), поліортоєфіри й поліангідриди. Перераховані препарати можна вводити через хірургічний розріз у підшкірну тканину, м'язову тканину або безпосередньо в окремі органи.

- Приготування парентеральних препаратів у стерильних умовах, наприклад за допомогою ліофілізації, можна легко здійснити із застосуванням стандартних фармацевтичних методик, добре відомих кваліфікованим фахівцям у даній галузі.

- 60 Розчинність хімічних сполук формули (I), які застосовуються для приготування

парентеральних розчинів, можна підвищити шляхом використання придатних методик приготування препаратів, таких як введення співрозчинників і/або агентів, які посилюють розчинність, таких як поверхнево-активні речовини, міцелярні структури й циклодекстрини.

В одному варіанті здійснення, хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна вводити перорально. Пероральне введення може включати проковтування, так що сполука потрапляє в шлунково-кишковий тракт, і/або букально, лінгвально або сублінгвально, коли сполука потрапляє в кровоносну систему безпосередньо з ротової порожнини.

Препарати, придатні для перорального введення, включають тверді пресовані маси, тверді мікрочастинки, напівтверді форми й рідини (включаючи багатофазні або дисперговані системи), такі як таблетки; м'які або тверді капсули, що містять мульти- або нанопартикуляти, рідини, емульсії або порошки; таблетки для розсмоктування (включаючи наповнені рідиною); жувальні форми; гелі; швидко дисперговані дозовані форми; плівки; супозиторії; спреї й букальні/адгезивні до слизової пластини.

Препарати, придатні для перорального введення, можуть також доставляти хімічні сполуки запропоновані даним винаходом за типом негайного вивільнення або за типом уповільненого вивільнення, де профіль вивільнення може бути уповільненим, пульсуючим, контрольованим, пролонгованим, або уповільненим і пролонгованим, або модифікованим таким чином, щоб оптимізувати терапевтичну ефективність зазначених хімічних сполук. Способи доставки хімічних сполук за типом уповільненого вивільнення добре відомі кваліфікованим фахівцям у даній галузі й включають полімери, які повільно вивільняють лікарські засоби, які можна уводити до складу препаратів із зазначеними хімічними сполуками для керування швидкістю їх вивільнення.

Приклади полімерів, які пролонгують вивільнення, включають здатні і нездатні розкладатися полімери, які можуть застосовуватися для вивільнення вказаних хімічних сполук шляхом їх дифузії або комбінації дифузії і руйнування полімеру. Приклади полімерів, які пролонгують вивільнення, включають гідроксипропіл метилцелюлозу, гідроксипропіл целюлозу, метил целюлозу, етил целюлозу, натрію карбоксиметил целюлозу, полівініловий спирт, полівініл піролідон, ксантанову камедь, поліметакрилати, поліетиленоксид і поліетиленгліколь.

Рідкі (включаючи мультифазні й дисперговані системи) препарати включають емульсії, розчини, сиропи й еліксири. Такі препарати можуть бути присутнім як наповнювачі для м'яких або твердих капсул (виготовлених, наприклад, з желатину або гідроксипропілметилцелюлози) і звичайно містять носій, наприклад, воду, етанол, поліетиленгліколь, пропіленгліколь, метилцелюлозу або придатну олію, і один або більше емульгуючих і/або суспендуєчих агентів. Рідкі препарати можна також готувати розведенням твердої речовини, наприклад з пакета-саше.

Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можуть також використовуватися у швидко розчинних, здатних швидко розкладатися, дозованих формах, таких як описані в роботі Liang and Chen, Expert Opinion in Therapeutic Patents, 2001, 11 (6), 981-986.

Препарати у формі таблеток обговорюються в роботі Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1, by H. Lieberman and L. Lachman (Marcel Dekker, New York, 1980).

Для введення людині, загальна денна доза хімічних сполук запропонованих даним винаходом звичайно становить від 0.01 мг до 1000 мг, або від 0.1 мг до 250 мг, або від 1 мг до 50 мг, залежно від курсу й способу введення.

Сумарне дозування можна вводити у вигляді однієї дози або у вигляді декількох окремих доз, і вона може, за рішенням лікаря, виходити за межі наведеного вище типового інтервалу значень. Зазначені дозування засновані на розрахунках для середньої людини, яка має вагу від 60 кг до 70 кг. Лікар може легко визначити дозування для пацієнтів, вага яких перебуває за межами зазначеного діапазону, таких як діти або люди похилого віку.

Методи синтезу

Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна одержати згідно з методиками у наведених далі схемах і прикладах, з використанням придатних сполук, і методів синтезу додатково проілюстрованих окремими прикладами, описаними нижче. Крім того, за допомогою описаних у даному тексті методик, кваліфікований фахівець у даній галузі легко може одержати додаткові хімічні сполуки, які входять в межі даного винаходу. Проілюстровані в прикладах хімічні сполуки, однак, не обмежують обсягу даного винаходу. Наведені приклади додатково ілюструють подробиці одержання хімічних сполук запропонованих даним винаходом. Кваліфікованому фахівцеві в даній галузі буде зрозуміло, що відомі варіації умов і процесів описаних далі методик одержання можуть використовуватися для одержання зазначених хімічних сполук.

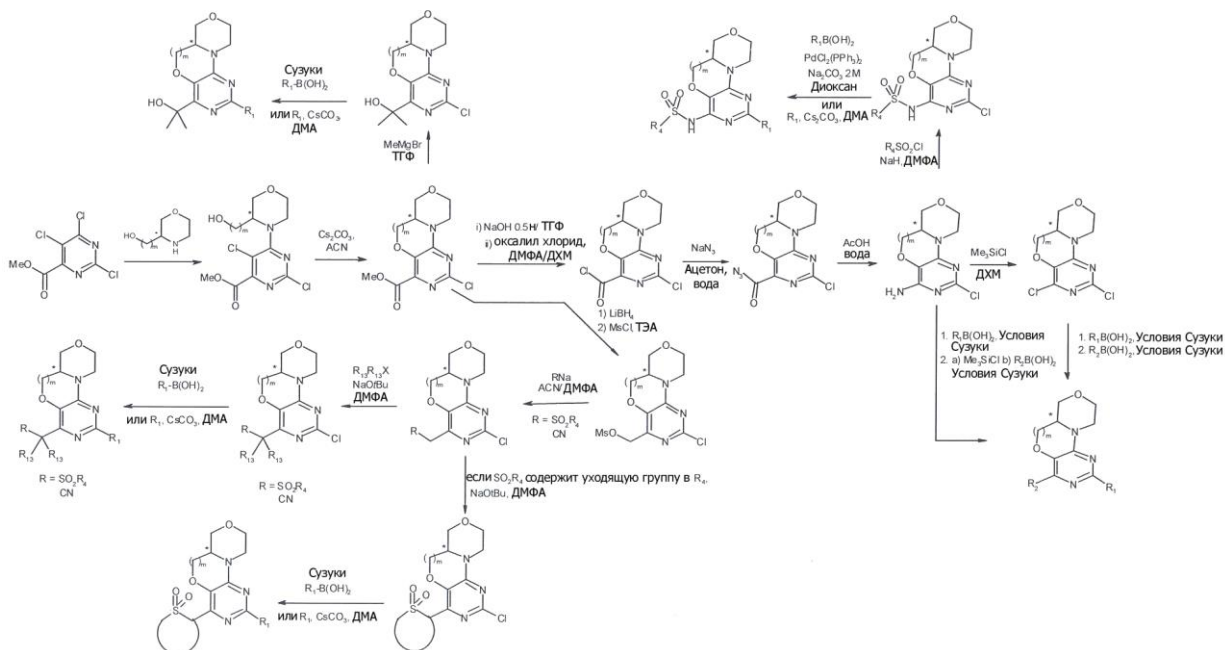
Хімічні сполуки запропоновані даним винаходом можна виділяти у формі їх фармацевтично

прийнятних солей, таких як описані вище в даному тексті.

Може виявитися необхідним захищати реакційно-здатні функціональні групи (наприклад, гідрокси-групи, аміногрупи або карбоксильні групи) у проміжних продуктах хімічних сполук, які використовуються для одержання, відповідно до даного винаходу, щоб уникнути їх небажаної участі в реакціях хімічних сполук, які здійснюються до одержання описаних сполук. Можна використовувати загальноприйняті захисні групи, наприклад, описані в роботі T. W. Greene and P. G. M. Wuts "Protective groups in organic chemistry" John Wiley and Sons, 4th Edition, 2006. Наприклад, поширеною захисною групою для аміногруп, придатних для застосування запропонованого даним винаходом, є трет-бутоксикарбонільна (Boc) група, яка легко видаляється при обробці кислотою, такою як трифтороцтова кислота або хлороводень в органічному розчиннику, такому як дихлорметан. Альтернативно, як захисна група для аміногруп може застосовуватися бензилоксикарбонільна (Z) група, яку можна видалити гідруванням на паладієвому катализаторі в атмосфері водню, або 9-флуоренілметилоксикарбонільна (Fmoc) група, яку можна видалити розчином вторинного органічного аміну, такого як диетиламін або піперидин, в органічних розчинниках. Карбоксильні групи звичайно захищають через їхні складні ефіри, такі як метильний, етильний, бензильний або трет-бутильний, які можна видаляти гідролізом у присутності основ, таких як гідроксид літію або натрію. Бензильні захисні групи можна також видаляти гідруванням на паладієвому катализаторі в атмосфері водню, а трет-бутильні групи можна видалити дією трифтороцтової кислоти. Альтернативно, трихлоретильні складноєфірні групи видаляють дією цинку в оцтовій кислоті. Захисними групами для гідроксильних груп, які часто використовуються, що підходять для застосування в даному винаході, є метиловий ефір, умови видалення якого включають кип'ятіння в 48%-ному водному розчині HBr протягом 1-24 годин, або перемішування із трибромідом бору в дихлорметані протягом 1-24 годин. Альтернативно, у випадку якщо гідроксильна група захищена за допомогою формування бензильового ефіру, умови її видалення передбачають гідрування на паладієвому катализаторі в атмосфері водню.

Хімічні сполуки загальної формули (I) можна одержати загальновідомими методами синтезу, наприклад (але не обмежуючись тільки ними) способами, коротко підсумованими на Схемі 1.

Схема 1



На Схемі 1, * позначає хіральний центр.

Методи синтезу інших сполук, які відповідають формулі (I), будуть очевидними для кваліфікованих фахівців у даній галузі.

Короткий опис креслень

На Фіг. 1 показане інгібування ATR у живих клітинах хімічними сполуками із Прикладу 1, Прикладу 2, Прикладу 3 і Прикладу 1, а також дія кофеїну, інгібітору ATR.

На Фіг. 2(A) показаний вплив хімічних сполук із Прикладу 1 і Прикладу 2, окремо або в комбінації з гідроксисечовиною (HU), на концентрацію хроматин-зв'язаного RPA (реплікативний

білок А). На Фіг. 2(В) показаний вплив хімічних сполук із Прикладу 3 і Прикладу 11 на концентрацію хроматин-зв'язаного RPA.

На Фіг. 3(А) показаний вплив хімічних сполук із Прикладу 1 і Прикладу 2, окремо або в комбінації з HU, на проходження клітин через контрольну точку G2/M. На Фіг. 3(В) показаний

вплив хімічних сполук із Прикладу 3 і Прикладу 11 на проходження клітин через фазу S.

На Фіг. 4(А) показаний вплив хімічних сполук із Прикладу 1 і Прикладу 2, окремо або в комбінації з HU, на формування ядерних вогнищ ДНК-репаруючого білка 53BP1. На Фіг. 4(В) показаний вплив хімічних сполук із Прикладу 3 і Прикладу 11 на формування ядерних вогнищ ДНК-репаруючого білка 53BP1.

На Фіг. 5 показаний вплив хімічної сполуки із Прикладу 11 на фармакокінетичний профіль.

На Фіг. 6 показаний вплив хімічної сполуки із Прикладу 3 на фармакокінетичний профіль.

На Фіг. 7 показаний вплив хімічної сполуки із Прикладу 11 на об'єм пухлини в мишей, яким ін'єкційно вводили клітини Ер-тус лімфоми.

На Фіг. 8 показаний вплив хімічної сполуки із Прикладу 3 на об'єм пухлини в мишей, яким ін'єкційно вводили клітини Ер-тус лімфоми.

Здійснення винаходу

Приклади

Даний винахід проілюстрований наведеними нижче необмежувальними прикладами синтезу, характеристизації й біологічного тестування, у яких використовуються наступні аббревіатури й визначення:

Далі за текстом, термін "ДХМ" означає дихлорметан, "CHCl₃" означає хлороформ, "MeOH" означає метанол, "EtOH" означає етанол, "EtOAc" означає етилацетат, "ТГФ" означає тетрагідрофуран, "AcCN" означає ацетонітрил, "ДМАП" означає 4-диметиламінопіридин, "DIPEA" означає диізопропілетиламін, "ДМФА" означає диметилформамід, "ДМЕ" означає диметоксиетан, "ДМА" означає диметилацетамід, "ДМСО" означає диметилсульфоксид, "Et₂O" означає діетиловий ефір, "гекс" означає гексан, "EtOAc" означає етилацетат, "BA/BE" означає боронову кислоту/ефір, "Pd(PPh₃)₄" означає тетракіс(трифенілфосфін)паладій, "Pd(Ph₃P)₂Cl₂" означає дихлорбіс(трифенілфосфін)паладій(II), "Pd(dppf)Cl₂.ДХМ" означає комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероценпаладій(II) дихлорида з дихлорметаном, "CDI" означає карбонілдіімідазол, "Na₂SO₄" означає динатрію сульфат, "MgSO₄" означає сульфат магнію, "K₂CO₃" означає карбонат калію, "Na₂CO₃" означає карбонат натрію, "NaHCO₃" означає бікарбонат натрію, "NaNH" означає гідрид натрію, "ТЕА" означає триетиламін, "POCl₃" означає оксихлорид фосфору, "ТФОК" означає трифтороцтову кислоту, "ТБАФ" означає тетрабутиламонію фторид, "насих." означає насичений, "водн." означає водний, "Ar" означає аргон, "ВЕРХ" означає вискоєфективну рідинну хроматографію, "t_R" означає час утримання, "MS" означає мас-спектрометрію, "ТШХ" означає тонкошарову хроматографію, "R_f" означає коефіцієнт утримання, "г" означає грам(и), "ммоль" означає мілімоль(мілімолі), "екв." означає еквівалент(и), "мл" означає мілілітр(и), "хв." означає хвилини, "година" означає година(и), "rt" позначає кімнатну температуру.

Характеризація

ЯМР спектри записували на спектрометрах Bruker Avance II 300 і Bruker Avance II 700, оснащених 5мм QXI 700 S4 обернено-фазним, Z-градієнтним блоком і блоком контролю й зміни температури.

ВЕРХ експерименти проводили за допомогою HP 1100 від Agilent Technologies, який має насос (бінарний) з дегазатором, автодозатор, колонковий термостат, діод-матричний детектор (DAD) і колонки, зазначені нижче при описі відповідних методів. Потік зі колонки розділяли й спрямовували частину потоку в МС-спектрометр. Мас-детектор був обладнаний джерелом електроспреевої іонізації або API/APCI. Як газ-розпилювач використовували азот. Збір і аналіз даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Chemstation LC/MSD quad.

ВЕРХ метод 1 (LC-MS1): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на Gemini-nx C18 (100 × 2.0 мм; 5мкм), Розчинник А: вода з 0.1% мурашиної кислоти; Розчинник В: ацетонітрил з 0.1% мурашиної кислоти. Градієнт: від 5% В до 100% В протягом 8 хв. при 50°C, DAD.

ВЕРХ метод 2 (LC-MS2): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на Gemini-nx C18 (100 × 2.0 мм; 5мкм), Розчинник А: вода з 0.1% мурашиної кислоти; Розчинник В: ацетонітрил з 0.1% мурашиної кислоти. Градієнт: від 50% В до 100% В протягом 8 хв. при 50°C, DAD.

ВЕРХ метод 3 (LC-MS3): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на Gemini-nx C18 (100 × 2.0 мм; 5мкм), Розчинник А: вода з 0.1% мурашиної кислоти; Розчинник В: ацетонітрил з 0.1% мурашиної кислоти. Градієнт: від 5% В до 40% В протягом 8 хв. при 50°C, DAD.

ВЕРХ метод 4 (LC-MS4): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на колонці Gemini C18 (50 × 2 мм, 3 мкм); Розчинник А: вода з 0.1% мурашиної кислоти; Розчинник В: ацетонітрил з 0.1% мурашиної кислоти. Градієнт: 10-95 % В протягом 4 хв. при швидкості потоку 0.5 мл/хв., потім 2 хв. 100% В при 0.8 мл/хв., температура 50°C, DAD.

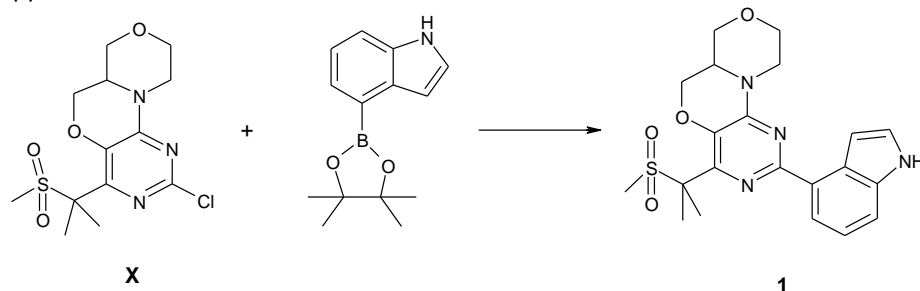
ВЕРХ метод 5 (LC-MS5): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на колонці Gemini C18 (50 × 2 мм, 3 мкм); Розчинник А: вода з 10мМ бікарбонату амонію; Розчинник В: ацетонітрил. Градієнт: 20-100 % В протягом 3 хв. при швидкості потоку 0.5 мл/хв., потім 2 хв. 100 % В при 0.8 мл/хв., температура 40°C, DAD.

ВЕРХ метод 6 (LC-MS6): Обернено-фазну ВЕРХ проводили на Gemini-nx C18 (100 × 2.0 мм; 5мкм), Розчинник А: вода з 0.1% мурашиної кислоти; Розчинник В: ацетонітрил з 0.1% мурашиної кислоти. Градієнт: від 0% В до 30% В протягом 8 хв. при 50°C, DAD.

"Виявлена маса" відноситься до найпоширенішого ізотопу при детектуванні в ході ВЕРХ-МС аналізу.

Оптичне обертання: Оптичне обертання вимірювали на цифровому приладі Perkin Elmer 241 при довжині гнізда 1 дм.

ПРИКЛАД 1

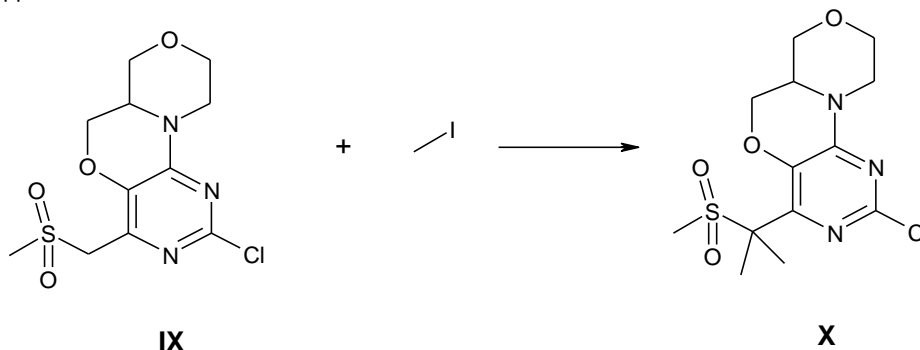


Суміш інтермедіата X (100 мг, 0.30 ммоль) з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти (90 мг, 0.37 ммоль), дихлорбіс(трифенілфосфін)паладієм(II) (40 мг) і 2М водним розчином Na_2CO_3 (0.4 мл) у диоксані (2 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском протягом 3 годин. Суміш темного кольору охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водою (20 мл) і екстрагували етилацетатом (2 × 15 мл). Органічні шари промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали спочатку методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 50% до 100% EtOAc) і 7М розчином NH_3 у суміші MeOH/ДХМ (від 0% до 10% NH_3). Цільовий продукт одержували у вигляді кремової твердої речовини, яку кілька разів розтирали в діетиловому ефірі, одержуючи 12 мг Прикладу 1.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.89 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.44 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.36 (д, $J = 2.8$ Гц, 1H), 7.24 (д, $J = 2.8$ Гц, 1H), 7.11 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 4.53 (д, $J = 12.6$ Гц, 1H), 4.33 (д, $J = 10.9$ Гц, 1H), 4.00 (д, $J = 11.4$ Гц, 1H), 3.89-3.82 (м, 2H), 3.70 (д, $J = 9.8$ Гц, 1H), 3.50 (т, $J = 10.6$ Гц, 1H), 3.19-3.02 (м, 2H), 2.89 (с, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.81 (с, 3H).

LC-MS1: $t_R = 4.88$ хв., $M+1 = 429.0$.

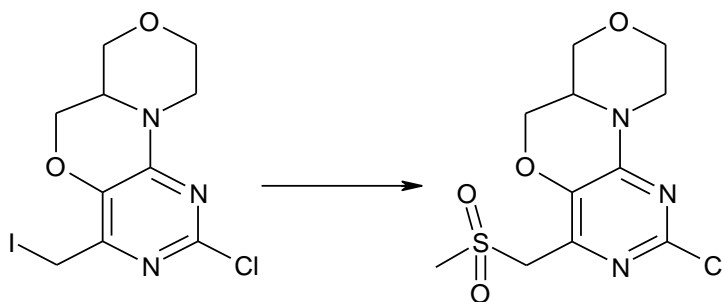
Інтермедіат X



До охолодженого (-5°C) розчину інтермедіату IX (100 мг, 0.3 ммоль) у ДМФА (1 мл) додавали трет-бутоксид натрію (35 мг, 0.3 ммоль) і MeI (20 мкл, 0.3 ммоль). Після 10 хвилин перемішування додавали ще трет-бутоксид натрію (35 мг, 0.3 ммоль) і MeI (35 мкл, 0.3 ммоль). Отриману суміш перемішували при 0°C 1 годину й за кімнатної температури протягом 3 годин. Суміш розбавляли дихлорметаном (5 мл), промивали 1М водним розчином HCl (2 × 15 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Отриманий жовтий залишок був цільовим продуктом X, який

використовували далі без додаткового очищення (75 мг).

Інтермедіат IX



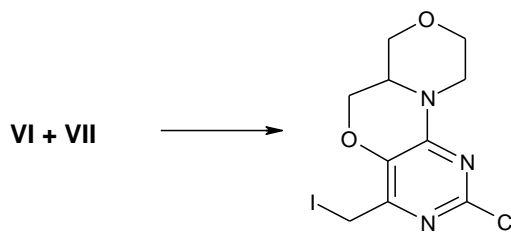
VIII

IX

Суміш інтермедіата VIII (800 мг, 2.1 ммоль) і метансульфінату натрію (200 мг, 3.8 ммоль) у ДМФА (8 мл) перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Суміш гасили додаванням 1М водного розчину Na_2SO_3 . Суміш екстрагували дихлорметаном (3×25 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі, одержуючи цільовий продукт у вигляді кремової твердої речовини, Інтермедіат IX (550 мг).

Інтермедіат IX можна також одержати прямо з Інтермедіата VI і VII. Суміш VI і VII (400 мг) з метансульфінатом натрію (150 мг, 1.4 ммоль) в $\text{AcCN}/\text{ДМФА}$ (10 мл, 4:1) нагрівали при 80°C протягом 18 годин. Реакційну суміш гасили додаванням насич. водн. розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ і три рази екстрагували дихлорметаном (3×20 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Кремову тверду речовину, Інтермедіат IX, використовували в наступній стадії без додаткового очищення, 320 мг.

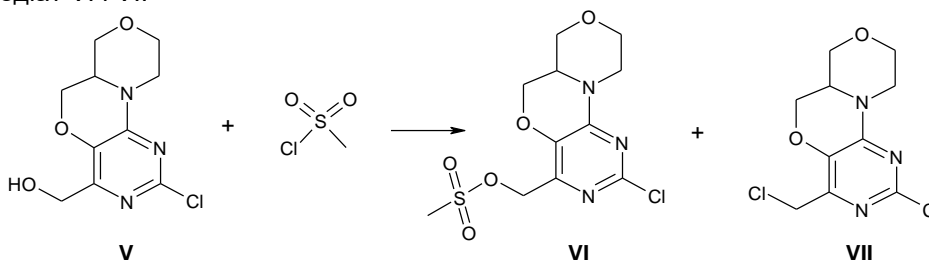
Інтермедіат VIII



VIII

Суміш VI, VII (800 мг) і йодида літію (730 мг, 5.4 ммоль) у діоксані (6 мл) кип'ятили 3 години. Суміш охолоджували до кімнатної температури й додавали воду й насичений водний розчин хлориду натрію. Суміш екстрагували етилацетатом (3×20 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Отриманий продукт використовували далі без додаткового очищення як Інтермедіат VIII (1 г, кількісний вихід).

Інтермедіат VI і VII



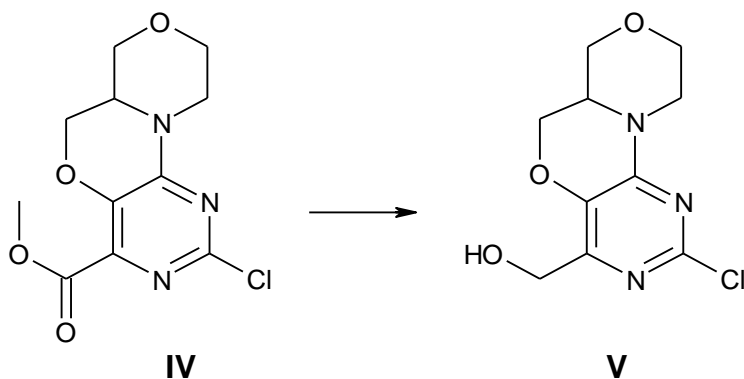
V

VI

VII

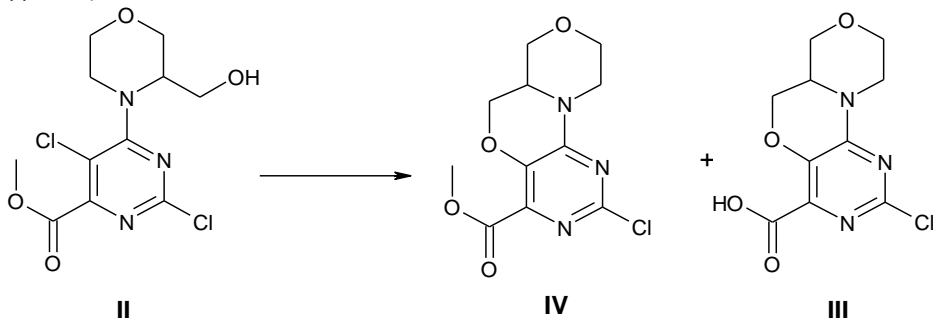
До розчину інтермедіату V (800 мг) у ДХМ (20 мл) з TEA (0.650 мл, 4.6 ммоль) прикапували метансульфонілхлорид (0.290 мл, 3.7 ммоль). Отриману суміш перемішували за кімнатної температури 1 годину й гасили додаванням насич. розчину NaHCO_3 . Шари розділяли, і водний шар екстрагували дихлорметаном (3×15 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію (30 мл), сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Отриманий залишок (800 мг) був сумішшю Інтермедіата VI і VII, але його використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

Інтермедіат V



У два розчини Інтермедіата IV (400 мг, 1.4 ммоль) у ТГФ (40 мл), охолоджені до 0°C, додавали 2М розчин боргідрид літію в ТГФ (1 мл). Отримані суміші перемішували при 0°C 15 хвилин і за кімнатної температури 1 годину. Отримані дві суміші гасили додаванням води, змішували й екстрагували етилацетатом (3 × 50 мл). Об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі. Цільовий продукт одержували у вигляді білої твердої речовини, Інтермедіат V (800 мг), і використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

Інтермедіат III, IV



До розчину інтермедіату II (1.860 г, 5.7 ммоль) у ТГФ (280 мл) додавали в один прийом NaH (60%-на суспензія в мінеральній олії, 276 мг). Отриману суміш перемішували при 60°C 5 годин, додавали ще NaH (60 мг), продовжуючи нагрівання протягом 3 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури, гасили додаванням суміші вода/лід і частково видаляли розчинники на роторному випарнику. Суміш розбавляли деякою кількістю води й екстрагували етилацетатом (3 × 20 мл). Об'єднаний органічний шар промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі.

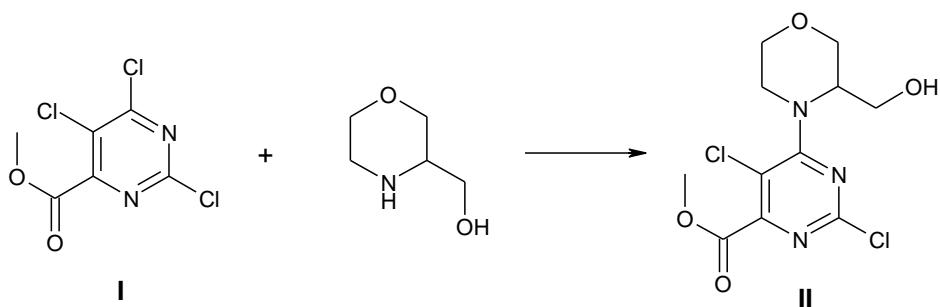
Отриманий сирий продукт розтирали в MeOH, відфільтровували, і фільтрат випаровували у вакуумі. Фільтрат очищали методом флеш-хроматографії, елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25% до 100% EtOAc), але отримана кількість цільового продукту IV була дуже малою (30 мг).

Водний шар підкисляли й екстрагували дихлорметаном (3 × 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі, одержуючи білу тверду речовину, була Інтермедіатом III (1.2 г).

До суспензії інтермедіата III (500 мг) в MeOH (25 мл) додавали 2М розчин (триметилсиліл)діазометану в ТГФ (3 мл). Отримані суміші перемішували за кімнатної температури протягом 3 годин і додавали ще 2М розчин триметилсилілдіазометану в ТГФ (2.5 мл). Перемішування за кімнатної температури продовжували протягом 5 годин. Реакції гасили додаванням води, поєднували й екстрагували етилацетатом (2 × 50 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію (20 мл), сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі, одержуючи цільовий продукт як Інтермедіат IV, світло-кремову тверду речовину (740 мг, 70%).

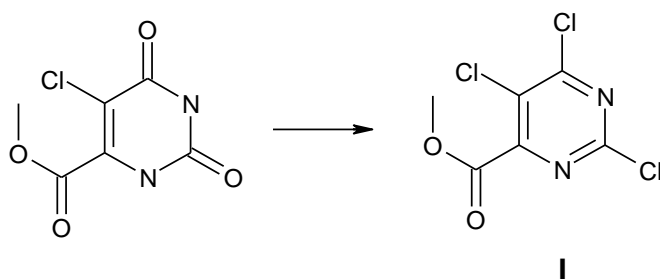
Інтермедіат IV можна синтезувати також з Інтермедіата II з використанням карбонату цезію як основи в AcCN, при нагріванні до завершення реакції.

Інтермедіат II



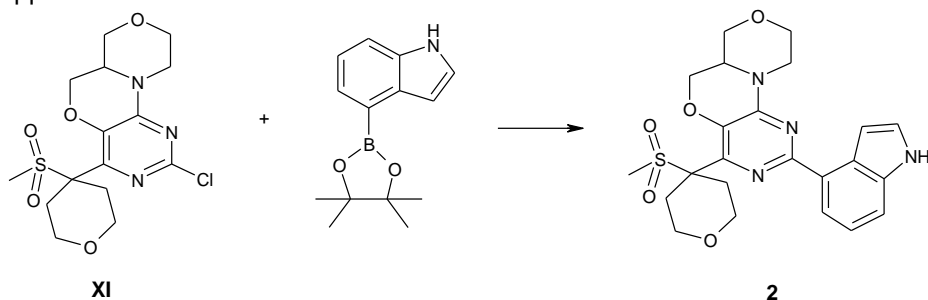
Суміш I (1.5 г, 6.2 ммоль) і (рац) 3-гідроксиметилморфоліну (875 мг, 7.4 ммоль) з DIPEA (1.6 мл, 9.3 ммоль) в EtOH (30 мл) нагрівали при 75°C 1.5 години. Суміш охолоджували до кімнатної температури й видаляли розчинники у вакуумі. Маслянистий залишок знову розчиняли в ДХМ (20 мл), промивали насич. розчином NaHCO_3 (3 \times 20 мл), насиченим водним розчином хлориду натрію (30 мл), сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Цільовий продукт, інтермедіат II (1.860 г, 93%), використовували далі без додаткового очищення.

Інтермедіат I



Оксихлорид фосфору (150 мл) прикапували до метил 5-хлор-2,6-діоксо-3Н-піримідин-4-карбоксилату (5 г, 24 ммоль) за допомогою лійки із протитиском протягом 30 хвилин при 0°C. Потім додавали N,N-диетиланілін (5 мл, 32 ммоль). Отриману суміш нагрівали до кімнатної температури й кип'ятили протягом 18 годин. Коричневу суміш охолоджували до кімнатної температури, і надлишок POCl_3 видаляли при зниженого тиску. Маслянистий залишок виливали в суміш лід/вода й екстрагували діетиловим ефіром (3 \times 20 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Коричневу тверду речовину розтирали в циклогексані, одержуючи коричнево-рожеву тверду речовину, Інтермедіат I (4 г, 78%).

ПРИКЛАД 2

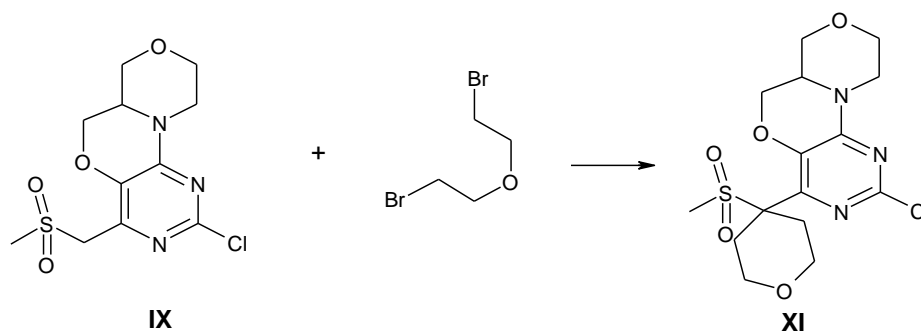


Приклад 2 синтезували за методикою, аналогічною до Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 7.88 (д, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.44 (д, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.35 (д, $J=3.0$ Гц, 1H), 7.24–7.03 (м, 2H), 4.56 (д, $J=12.3$ Гц, 1H), 4.31 (дд, $J=10.8, 3.1$ Гц, 1H), 4.00 (д, $J=11.3$ Гц, 1H), 3.85–3.78 (м, 5H), 3.52–3.58 (м, 1H), 3.31–3.02 (м, 6H), 2.89 (с, 3H) 2.10–2.02 (м, 2H).

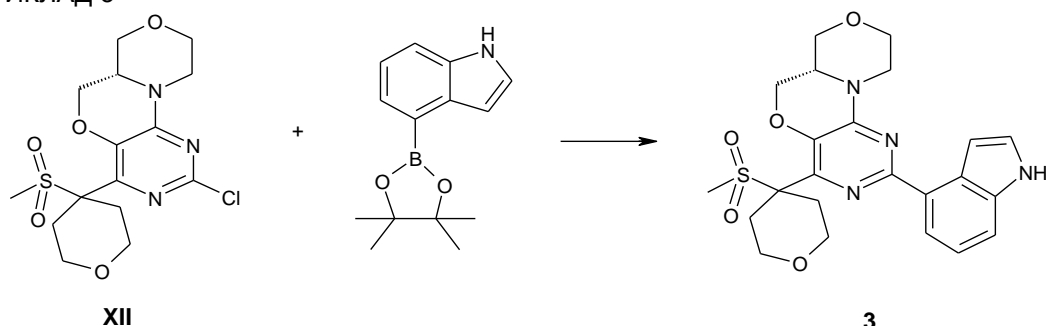
LC-MS1: t_R = 4.54 хв., $M+1$ = 471.0.

Інтермедіат XI



До охолодженого (0°C) розчину інтермедиату IX (75 мг, ммоль) у ДМФА (3 мл) з біс(2-брометил)овим ефіром (75 мкл, ммоль) додавали в один прийом $t\text{BuONa}$ (55 мг). Отриману суміш перемішували за кімнатної температури протягом 5 годин. Додавали ще $t\text{BuONa}$ (25 мг) і перемішували за кімнатної температури 22 години. Суміш розбавляли етилацетатом і водою. Органічний шар відокремлювали й промивали водою (3 × 10 мл), сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Сирий продукт, Інтермедіат XI (100 мг), використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

ПРИКЛАД 3



Приклад 3 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедиата XII з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.14 (с, 1H), 7.87 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.44 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.42 (розшир.с, 1H), 7.23 (розшир.с, 1H), 7.16 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 4.55 (д, $J = 12.9$ Гц, 1H), 4.31 (дд, $J = 10.7, 3.2$ Гц, 1H), 4.00 (д, $J = 11.2$ Гц, 1H), 3.93 – 3.62 (м, 5H), 3.51 (т, $J = 10.6$ Гц, 1H), 3.23 – 3.05 (м, 5H), 2.79 (с, 3H), 2.11-2.05 (м, 2H).

LC-MS1: $t_R = 4.55$ хв., $M+1 = 471.0$.

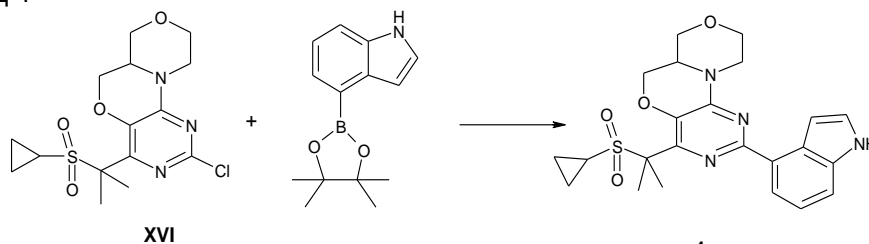
$[\alpha]_D^{25} = +40$ (с 0.273, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1).

Інтермедіат XII

Інтермедіат XII синтезували за методикою, аналогічною до описаної для синтезу інтермедиата XI, але використовуючи на стадії 1 гідрохлорид 3(R)-гідроксиметилморфоліну.

Інтермедіат XIV, $[\alpha]_D^{25} = +29$ (с 0.52, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1).

ПРИКЛАД 4

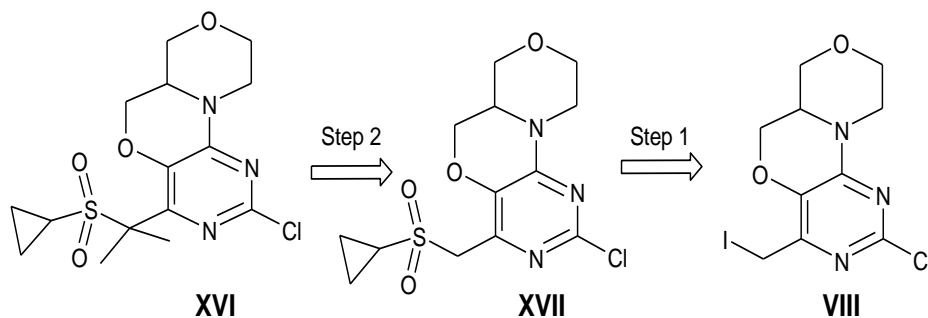


Приклад 4 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедиата XVI з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.12 (с, 1H), 7.91 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.41 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H), 7.35 (розшир.с, 1H), 7.27 (розшир.с, 1H), 7.09 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 4.53 (д, $J = 12.1$ Гц, 1H), 4.32 (дд, $J = 11.0, 3.3$ Гц, 1H), 3.98 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 3.92 – 3.74 (м, 2H), 3.69-3.65 (м, 1H), 3.49-3.44 (м, 1H), 3.21 – 2.96 (м, 2H), 2.65-2.60 (м, 1H), 1.88 (с, 6H), 0.92 – 0.67 (м, 4H).

LC-MS1: $t_R = 5.18$ хв., $M+1 = 455.0$.

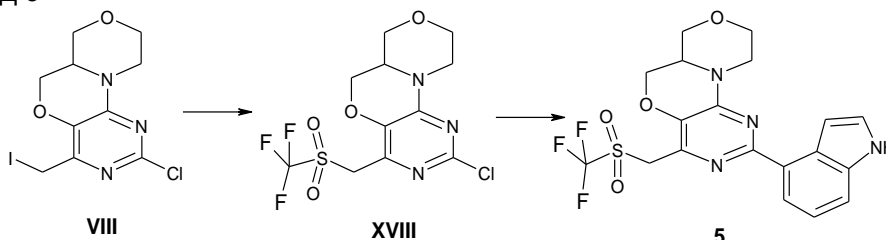
Інтермедіат XVI



Інтермедіат XVI синтезували за методикою, аналогічною до описаної для інтермедіата X, шляхом реакції алкілювання інтермедіата XVII метилйодидом.

Інтермедіат XVII синтезували за методикою, аналогічною до описаної для інтермедіата IX, реакцією VIII із циклопропансульфінатом натрію.

ПРИКЛАД 5



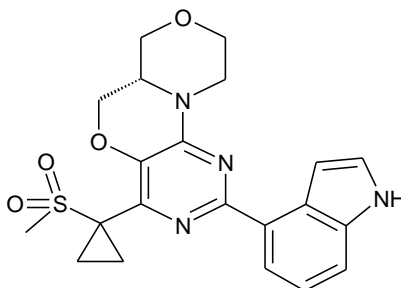
Сполуку 5 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Продукту 1, шляхом комбінації інтермедіата XVIII з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.93 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.45 (д, J = 7.9 Гц, 1H), 7.39-7.32 (м, 2H), 7.12 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.58 – 4.35 (м, 2H), 4.01 (д, J = 8.5 Гц, 1H), 3.89-3.84 (м, 2H), 3.74-3.70 (м, 1H), 3.65-3.55 (м, 2H), 3.53-3.50 (м, 1H), 3.27 – 3.02 (м, 2H).

LC-MS1: t_R = 5.29 хв., M+1 = 455.0.

Інтермедіат XVIII одержували реакцією інтермедіата VIII із трифторметансульфінатом натрію в ДМФА при 80°C протягом 2 годин.

ПРИКЛАД 6

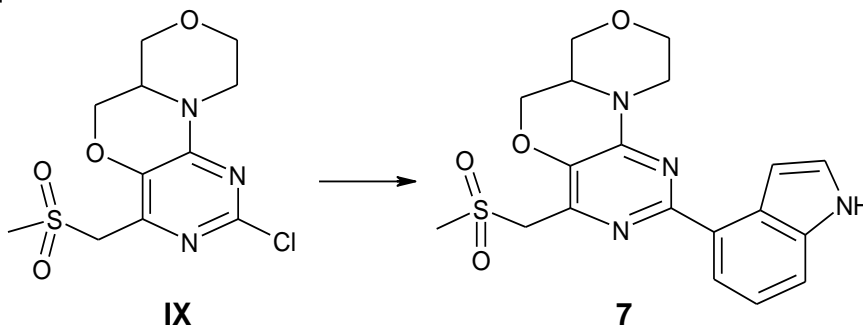


Приклад 6 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 27, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1: t_R = 4.77 хв., M+1 = 427.1.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.21 (с, 1H), 7.98 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.48 (д, J = 7.9 Гц, 1H), 7.45 – 7.31 (м, 2H), 7.16 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.53 (м, 1H), 4.43 (м, 1H), 4.06 (м, 1H), 4.05 – 3.90 (м, 2H), 3.74 (м, 1H), 3.56 (м, 1H), 3.29 – 3.11 (м, 2H), 3.09 (с, 3H), 1.71 (м, 2H), 1.43 (м, 2H).

ПРИКЛАД 7



Приклад 7 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом

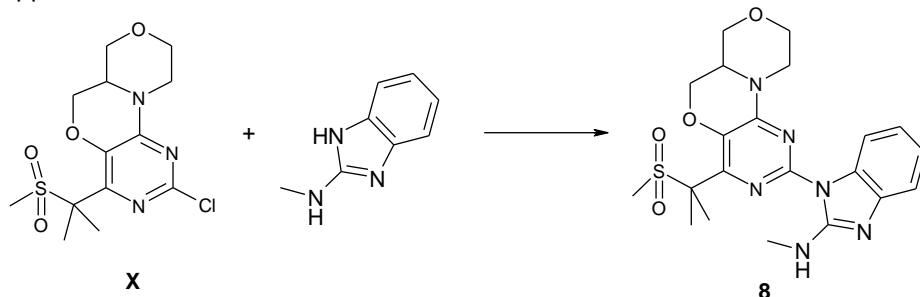
комбінації інтермедіата IX з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.96 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.49 (д, J = 8.0 Гц, 1H), 7.39 (д, J = 3.0 Гц, 1H), 7.35 (д, J = 3.0 Гц, 1H), 7.16 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.64 – 4.31 (м, 4 H), 4.11 – 4.00 (м, 1H), 4.02 – 3.84 (м, 2H), 3.77-3.74 (м, 1H), 3.57 (т, J = 11.7 Гц, 1H), 3.22 (т, J = 10.9 Гц, 1H), 3.15 (с, 3H), 3.13 – 3.03 (м, 1H).

5

LC-MS1: t_R = 3.64 хв., M+1 = 401.2.

ПРИКЛАД 8



Суміш інтермедіата X (50 мг, 0.14 ммоль) і N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміну (45 мг, 0.28 ммоль) з Cs₂CO₃ (140 мг, 0.43 ммоль) у ДМА (2 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском протягом 7 днів. Суміш охолоджували до кімнатної температури, фільтрували й випаровували у вакуумі. Маслянистий залишок знову розчиняли в EtOAc (25 мл), промивали водою (3 × 20 мл) і насиченим водним розчином хлориду натрію (30 мл). Органічний шар сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі.

10

Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 50% до 100% EtOAc). Приклад 8 одержували в чистому вигляді (10 мг, 15%).

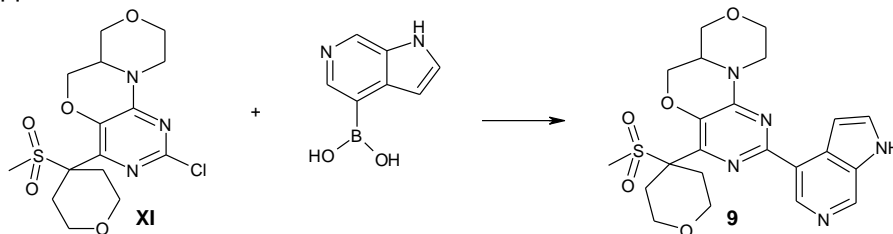
15

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.14 (кВ, J = 4.8 Гц, 1H), 8.00 (д, J = 7.8 Гц, 1H), 7.25 (д, J = 7.7 Гц, 1H), 7.07 (т, J = 7.5 Гц, 1H), 6.98 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 4.44-4.38 (м, 2H), 4.15 – 3.77 (м, 4H), 3.57 (т, J = 10.8 Гц, 1H), 3.23 (т, J = 10.8 Гц, 2H), 3.03 (с, 3H), 3.02 (д, J = 5.0 Гц, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.82 (с, 3H).

20

LC-MS1: t_R = 3.03 хв., M+1 = 459.0.

ПРИКЛАД 9



Приклад 9 (форміатна сіль) синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з В-1H-піроло[2,3-с]піридин-4-ілбороновою кислотою (CAS 1312368-90-3).

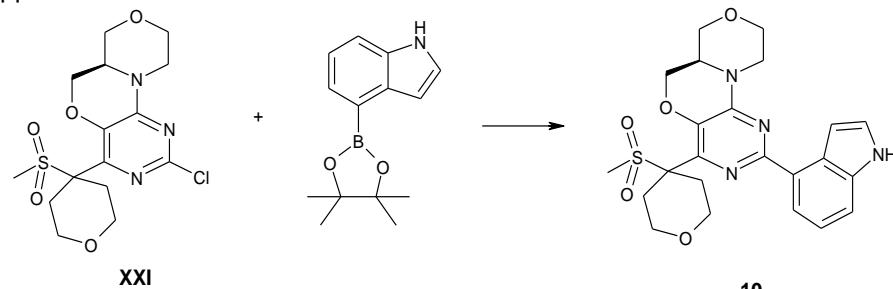
25

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.68 (с, 1H), 8.90 (с, 1H), 8.72 (с, 1H), 8.30 (с, 1H, НСООН), 7.62 (с, 1H), 7.12 (с, 1H), 4.63 (д, J=13.0 Гц, 1H), 4.43 – 4.37 (м, 1H), 4.09-3.53 (м, 7H), 3.33-3.15 (м, 6H), 2.87 (с, 3H), 2.18-1.95 (м, 2H).

30

LC-MS1: t_R = 2.36 хв., M+1 = 472.1.

ПРИКЛАД 10



Приклад 10 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XXI з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти.

35

Інтермедіат XXI синтезували за методикою, аналогічної використаної для синтезу

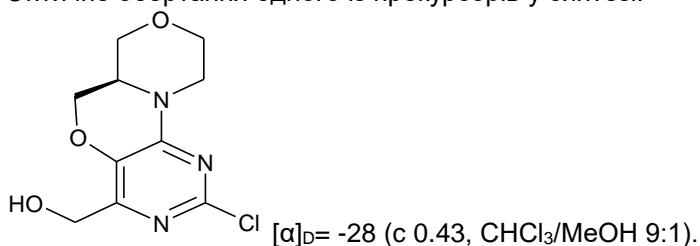
інтермедіата XII, але використовуючи 3(S)-гідроксиметилморфолін на стадії 1.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.21 (с, 1H), 7.94 (д, J = 7.3 Гц, 1H), 7.48 (д, J = 8.0 Гц, 1H), 7.42 (с, 1H), 7.23 (с, 1H), 7.16 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.63 (д, J = 12.8 Гц, 1H), 4.38 (дд, J = 10.7, 3.1 Гц, 1H), 4.07 (д, J = 11.4 Гц, 1H), 3.99 – 3.68 (м, 5H), 3.58 (т, J = 10.7 Гц, 1H), 3.30 – 3.07 (м, 6H), 2.86 (с, 3H), 2.23 – 2.04 (м, 2H).

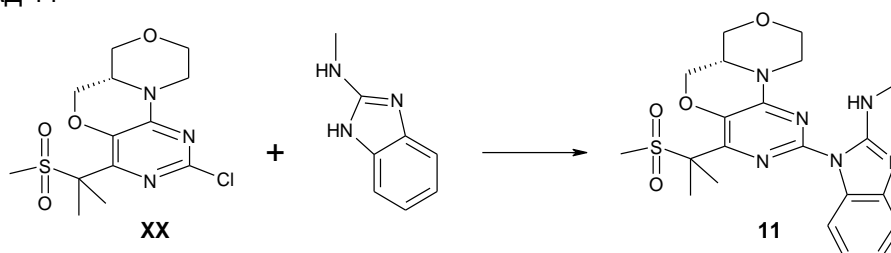
LC-MS1: t_R = 4.58 хв., M+1 = 471.3.

[α]_D = -36 (с 0.32, CHCl₃/MeOH 9:1)

Оптичне обертання одного із прекурсорів у синтезі:



ПРИКЛАД 11



Приклад 11 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 8, із інтермедіата XX у ДМФА.

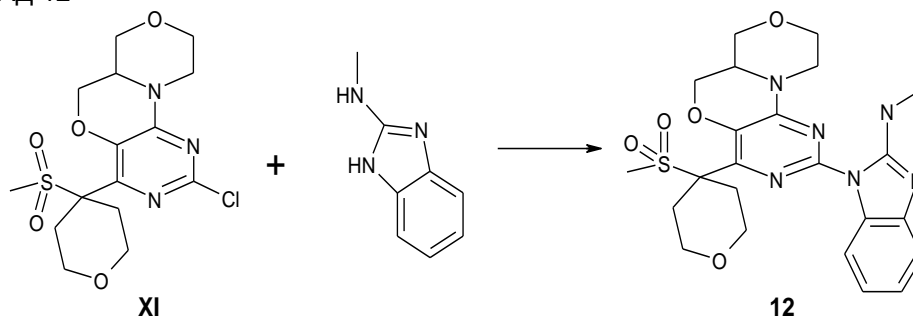
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.14 (кВ, J = 4.8 Гц, 1H), 8.00 (д, J = 7.8 Гц, 1H), 7.25 (д, J = 7.7 Гц, 1H), 7.07 (т, J = 7.5 Гц, 1H), 6.98 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 4.44-4.38 (м, 2H), 4.15 – 3.77 (м, 4H), 3.57 (т, J = 10.8 Гц, 1H), 3.23 (т, J = 10.8 Гц, 2H), 3.03 (с, 3H), 3.02 (д, J = 5.0 Гц, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.82 (с, 3H).

LC-MS1: t_R = 2.95 хв., M+1 = 459.1.

[α]_D = +49 (с 0.233, CHCl₃/MeOH 9:1).

Інтермедіат XX синтезували за схемами синтезу, описаним у даному тексті, і застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфоліну гідрохлорид.

ПРИКЛАД 12

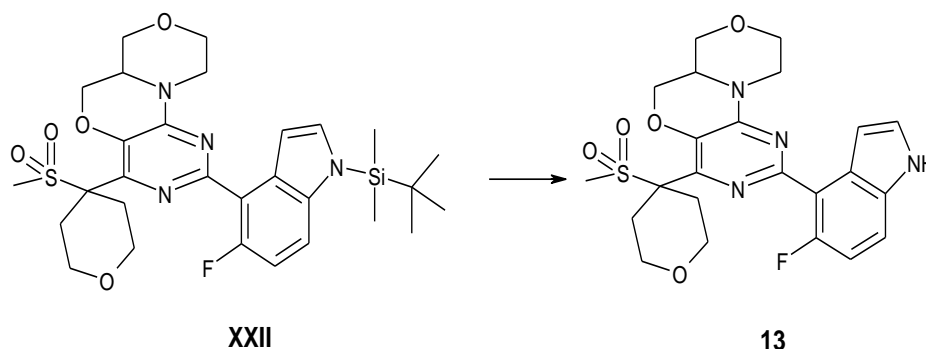


Приклад 12 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 8, із інтермедіата XI у суміші AcCN і ДМФА.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.96 (д, J = 7.9 Гц, 1H), 7.89 (кВ, J = 4.9 Гц, 1H), 7.25 (д, J = 7.6 Гц, 1H), 7.07 (т, J = 7.5 Гц, 1H), 6.98 (т, J = 7.5 Гц, 1H), 4.50 – 4.31 (м, 2H), 4.07 (д, J = 11.7 Гц, 1H), 4.00 – 3.76 (м, 5H), 3.59 (т, J = 10.6 Гц, 1H), 3.32-3.20 (м, 6H), 3.00 (д, J = 4.8 Гц, 3H), 2.94 (с, 3H), 2.18 - 2.06 (м, 2H).

LC-MS1: t_R = 2.82 хв., M+1 = 501.1.

ПРИКЛАД 13



До Інтермедіату XXII (80 мг) у ТГФ (3 мл) додавали TBAF (2 мл; 2 ммоль; 1М у ТГФ). Після перемішування протягом 1 години за кімнатної температури реакція закінчувалася. Потім додавали воду, і суміш екстрагували дихлорметаном, органічну фазу сушили над MgSO_4 , фільтрували й випаровували, одержуючи залишок, який очищали методом автоматизованої хроматографії в суміші EtOAc/циклогексан (від 50% до 75% EtOAc). Приклад 13 одержували у вигляді білої твердої речовини (7 мг).

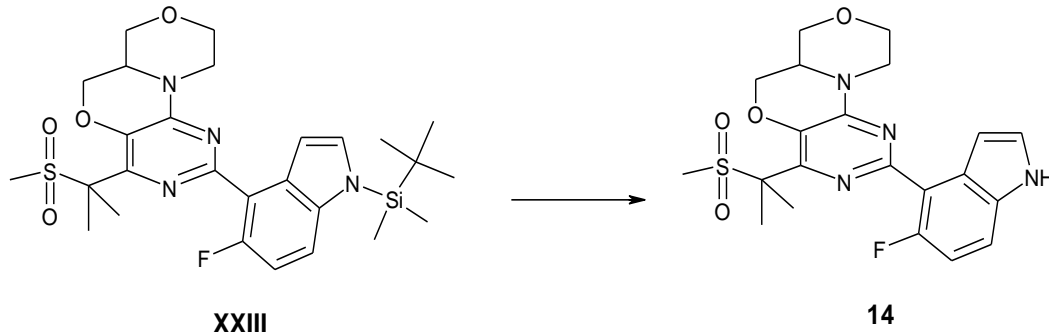
^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.24 (с, 1H), 7.56 – 7.30 (м, 2H), 6.97 (дд, J = 11.3, 8.8 Гц, 1H), 6.79 (с, 1H), 4.55 – 4.31 (м, 2H), 4.05 – 3.74 (м, 6H), 3.53 (т, J = 10.5 Гц, 1H), 3.27 – 3.00 (м, 5H), 2.85 (с, 3H), 2.18 – 1.94 (м, 3H).

LC-MS1: t_R = 4.51 хв., $M+1$ = 489.0.

Інтермедіат XXII

Суміш інтермедіата XI (50 мг), [1-(трет-бутил-диметил-силаніл)-5-фтор-1H-індол-4-іл]боронової кислоти (45 мг, 0.15 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (18 мг), 2М водного розчину Na_2CO_3 (0.250 мл) у диоксані (1 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакції під тиском протягом 2 годин. Суміш темного кольору фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Фільтрат випаровували у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії на SiO_2 , елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25% до 75% EtOAc). Цільову сполуку XXII одержували у вигляді білої твердої речовини, (80 мг).

ПРИКЛАД 14



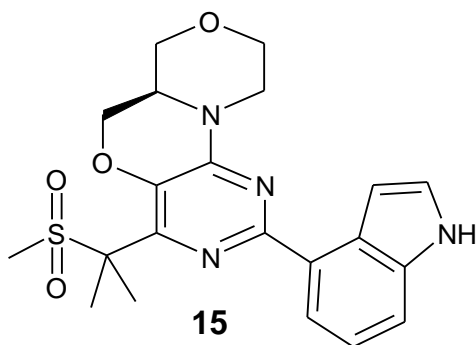
Приклад 14 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 13.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.30 (с, 1H), 7.53 – 7.45 (м, 2H), 7.04 (дд, J = 11.4, 9.0, 1H), 6.87 (с, 1H), 4.54 – 4.43 (м, 2H), 4.09 – 3.78 (м, 4H), 3.58 (т, J = 10.9 Гц, 1H), 3.26 (т, J = 10.8 Гц, 1H), 3.13 (дт, J = 12.9, 3.0 Гц, 1H), 3.03 (с, 3H), 1.90 (с, 3H), 1.88 (с, 3H).

LC-MS1: t_R = 4.71 хв., $M+1$ = 447.0.

Інтермедіат XXIII синтезували реакцією комбінації X з [1-(трет-бутил-диметил-силаніл)-5-фтор-1H-індол-4-іл] бороною кислотою за тією ж методикою, яка застосовувалася для Інтермедіата XXII.

ПРИКЛАД 15

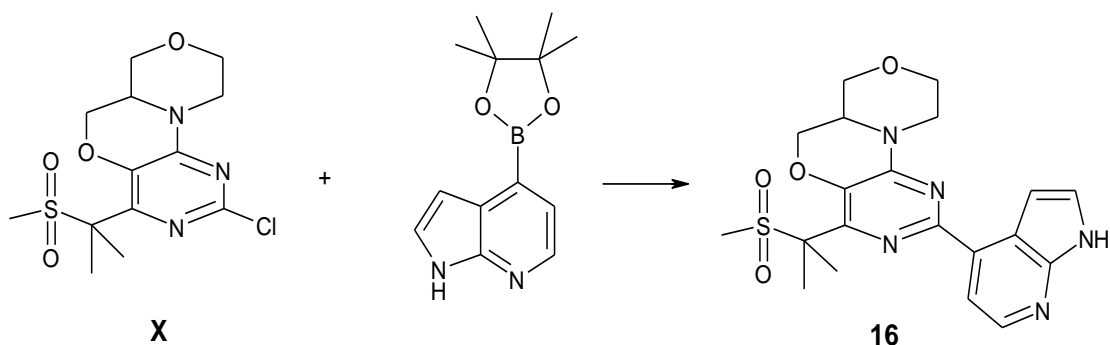


Приклад 15 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 1, застосовуючи як прекурсор 3(S)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1: t_R = 4.88 хв., $M+1$ = 429.0.

5 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.13 (с, 1H), 7.89 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.41 (д, J = 7.8 Гц, 1H), 7.34 (розшир.с, 1H), 7.24 (с, 1H), 7.09 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 4.53 (д, J = 12.2 Гц, 1H), 4.33 (дд, J = 10.9, 3.3 Гц, 1H), 3.99 (д, J = 8.4 Гц, 1H), 3.93 – 3.75 (м, 2H), 3.73 – 3.64 (м, 1H), 3.49 (т, J = 10.7 Гц, 1H), 3.23 – 3.00 (м, 2H), 2.88 (с, 3H), 1.82 (с, 3H), 1.81 (с, 3H).

ПРИКЛАД 16



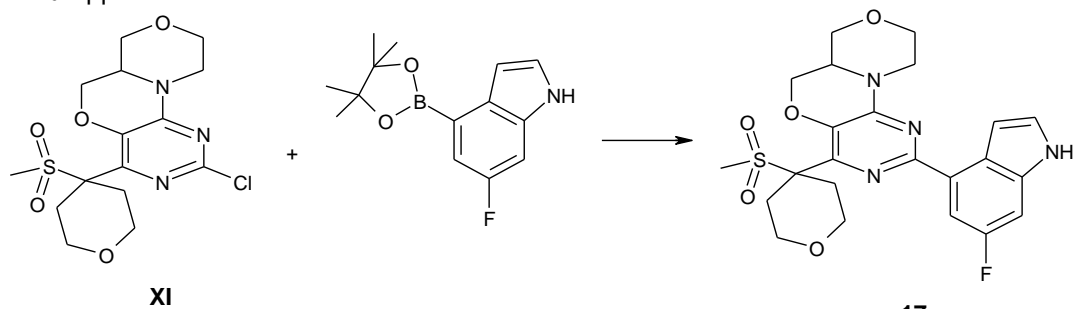
10 Суміш інтермедіата X (40 мг, 0.115 ммоль) з 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-іл)-1H-піроло[2,3-b] піридином (34 мг, 0.138 ммоль), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (12 мг, 0.017 ммоль) і 2M водним розчином Na_2CO_3 (0.23 мл) у диоксані (1.2 мл) кип'ятили в пробірці для проведення реакцій під тиском 4 годин. Темну реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Фільтрат випаровували у вакуумі, і отриманий залишок очищали методом флеш-хроматографії (SiO_2), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 20% до 50% EtOAc). Приклад 16 одержували у вигляді

15 кремової твердої речовини (31 мг).

LC-MS1 t_R = 3.606, MS: 430.0 $[M+H]^+$.

20 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.73 (с, 1H), 8.30 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 7.88 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 7.62 – 7.51 (м, 1H), 7.23 (дд, J = 3.3, 1.9 Гц, 1H), 4.59 (д, J = 12.0 Гц, 1H), 4.43 (дд, J = 10.9, 3.4 Гц, 1H), 4.06 (д, J = 8.5 Гц, 1H), 3.97 – 3.73 (м, 3H), 3.57 (т, J = 10.4 Гц, 1H), 3.28 – 3.10 (м, 2H), 2.95 (с, 3H), 1.90 (с, 3H), 1.88 (с, 3H).

ПРИКЛАД 17



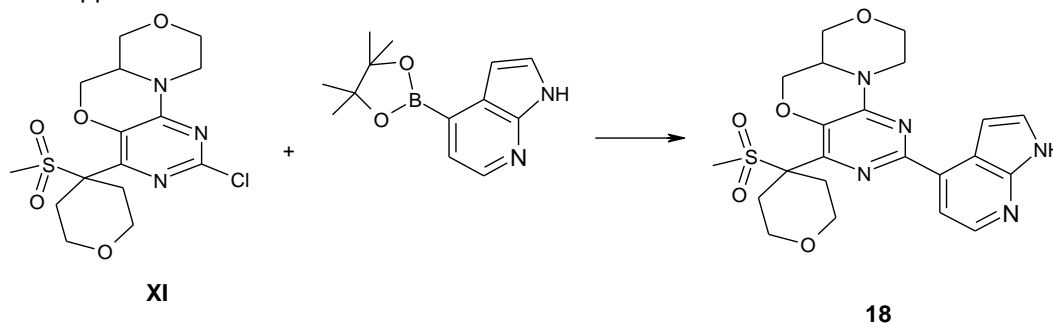
25 Приклад 17 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з пінаколовим ефіром індол 4-боронової кислоти.

LC-MS1 t_R = 4.78 хв., MS: 489.5 $[M+H]^+$.

30 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.22 (с, 1H), 7.65 (д, J = 13.7 Гц, 1H), 7.42 – 7.30 (м, 1H), 7.25 – 7.12 (м, 2H), 4.54 (д, J = 14.8 Гц, 1H), 4.32 (д, J = 10.6 Гц, 1H), 4.00 (д, J = 11.7 Гц, 1H), 3.95 – 3.78

(м, 4H), 3.78 – 3.66 (м, 1H), 3.51 (т, J = 10.9 Гц, 1H), 3.22 – 3.03 (м, 6H), 2.80 (с, 3H), 2.11 – 2.02 (м, 2H).

ПРИКЛАД 18

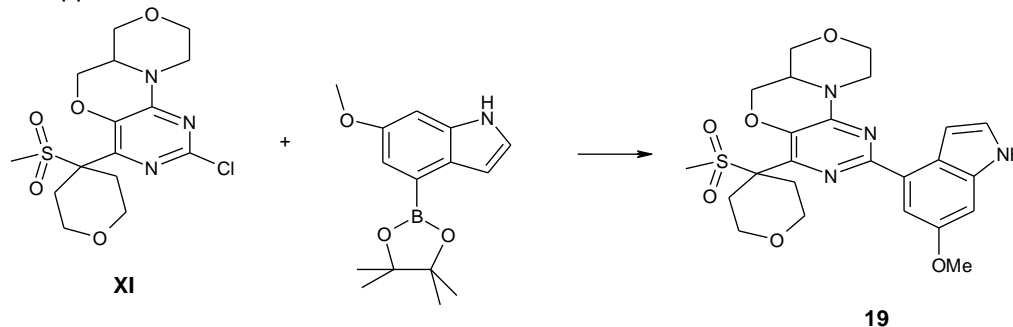


5 Приклад 18 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-іл)-1H-піроло [2,3-b]піридином.

LC-MS1 t_R = 3.42 хв., MS: 472.5 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.75 (с, 1H), 8.29 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 7.87 (д, J = 5.1 Гц, 1H), 7.55 (с, 1H), 7.15 (с, 1H), 4.62 (д, J = 12.6 Гц, 1H), 4.41 (дд, J = 10.8, 3.2 Гц, 1H), 4.08 (д, J = 11.2 Гц, 1H), 4.02 – 3.76 (м, 5H), 3.59 (т, J = 10.7 Гц, 1H), 3.30 – 3.11 (м, 6H), 2.87 (с, 3H), 2.23 – 2.07 (м, 2H).

ПРИКЛАД 19

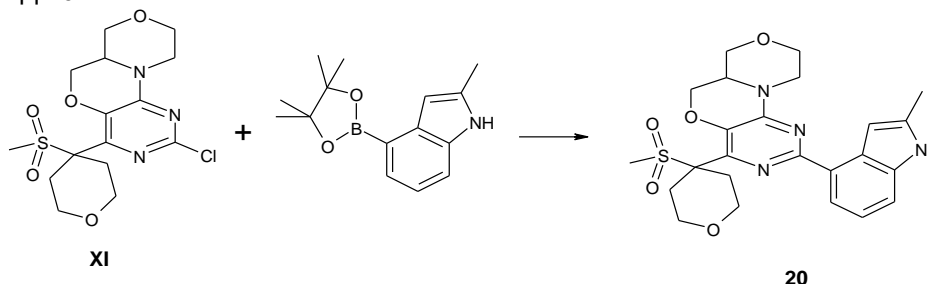


15 Приклад 19 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з 6-метокси-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-іл)-1H-індолом, CAS: 955979-12-1.

LC-MS1 t_R = 4.53 хв., MS: 501.6 [M+H]⁺.

20 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 10.96 (с, 1H), 7.53 (с, 1H), 7.22 (с, 1H), 7.08 (с, 1H), 6.97 (с, 1H), 4.56 (д, J = 13.6 Гц, 1H), 4.34 (д, J = 10.4 Гц, 1H), 4.03 (д, J = 11.0 Гц, 1H), 3.98 – 3.79 (м, 5H), 3.75 (с, 3H), 3.54 (т, J = 12.1 Гц, 1H), 3.23 – 3.05 (м, 6H), 2.81 (с, 3H), 2.18 – 2.02 (м, 2H).

ПРИКЛАД 20

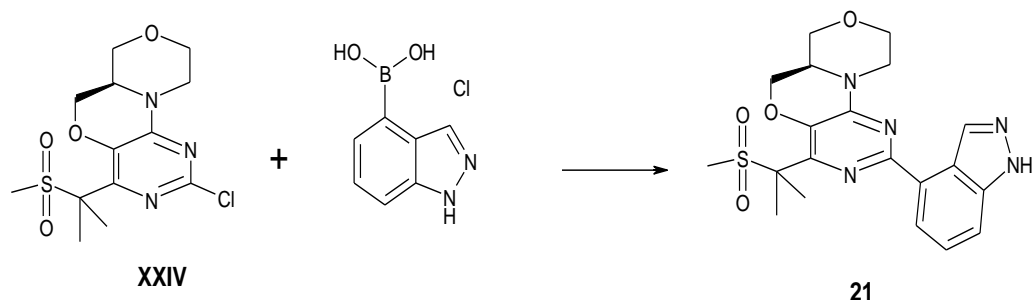


25 Приклад 20 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 1, шляхом комбінації інтермедіата XI з 2-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-іл)-1H-індолом, CAS:955979-22-3.

LC-MS1 t_R = 4.77 хв., MS: 485.6 [M+H]⁺.

30 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.03 (с, 1H), 7.88 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.34 (д, J = 7.8 Гц, 1H), 7.05 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 6.89 (с, 1H), 4.62 (д, J = 12.3 Гц, 1H), 4.37 (дд, J = 10.8, 3.1 Гц, 1H), 4.07 (д, J = 11.3 Гц, 1H), 4.02 – 3.70 (м, 5H), 3.58 (т, J = 11.9 Гц, 1H), 3.31 – 3.08 (м, 6H), 2.85 (с, 3H), 2.42 (с, 3H), 2.22 – 2.06 (м, 2H).

ПРИКЛАД 21



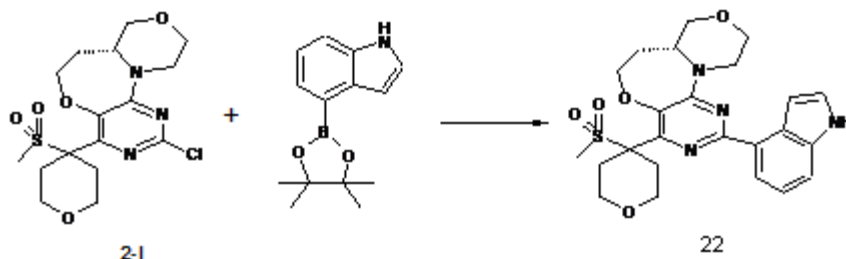
Приклад 21 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 15 шляхом комбінації інтермедіата XXIV з гідрохлоридом індазол-4-боронової кислоти.

LC-MS1: $t_R = 5.169$ хв., $M+1 = 430.10$.

5 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 13.18 (с, 1H), 8.75 (с, 1H), 8.05 (д, $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.63 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 7.49 – 7.38 (м, 1H), 4.60 (д, $J = 12.1$ Гц, 1H), 4.41 (дд, $J = 10.9, 3.3$ Гц, 1H), 4.07 (дд, $J = 11.4, 2.9$ Гц, 1H), 3.99 – 3.71 (м, 3H), 3.77 (т, $J = 9.4$ Гц, 1H), 3.57 (т, $J = 10.6$ Гц, 1H), 3.28–3.10 (м, 2H), 2.96 (с, 3H), 1.90 (с, 3H), 1.88 (с, 3H).

ПРИКЛАД 22

222



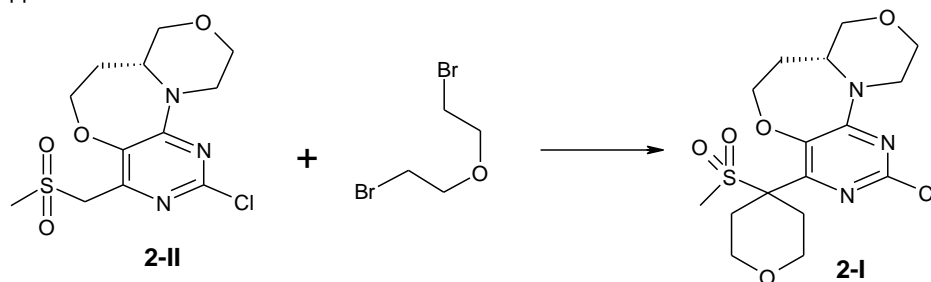
Суміш інтермедіата 2-I (80 мг), пінаколового ефіру індолю-4-боронової кислоти (60 мг, 0.25 ммоль), $PdCl_2(dppf)$ (25 мг) і 2М водного розчину Na_2CO_3 (0.4 мл, 0.8 ммоль) у діоксані (1 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском при $85^\circ C$ протягом 3 годин. Темну реакційну суміш фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Видаляли розчинники у вакуумі, і залишок очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II, 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25% до 100% EtOAc). Цільовий продукт одержували у вигляді білої твердої речовини як сполуку 22 (8 мг).

LCMS1, $t_R = 4.75$ хв., MS: 485.2 $[M+H]^+$.

20 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.24 (с, 1H), 7.97 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.50 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.43 (т, $J = 2.6$ Гц, 1H), 7.23 (с, 1H), 7.17 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 4.24 (т, $J = 5.5$ Гц, 2H), 4.11 – 3.70 (м, 8H), 3.53 – 3.46 (м, 1H), 3.30 – 3.09 (м, 4H), 2.85 (с, 3H), 2.24 – 1.93 (м, 4H).

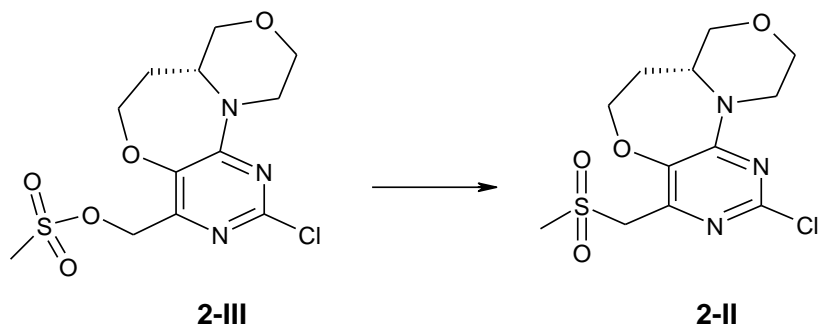
$[\alpha]_D = -15$ (с 0.204, $CHCl_3/MeOH$ 9:1) з енантімерним надлишком приблизно 60%.

Інтермедіат 2-I



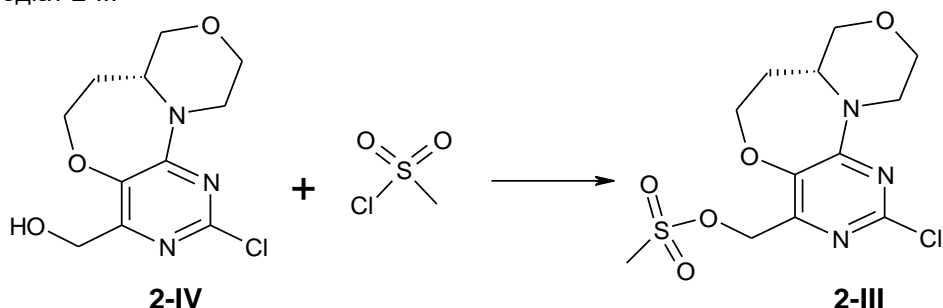
25 До охолодженої суміші інтермедіата 2-II (80 мг) і біс(2-брометил)ового ефіру (75 мкл, 0.6 ммоль) у ДМФА (4 мл) додавали в один прийом трет-бутоксид натрію (70 мг, 0.7 ммоль). Темно-коричневу суміш перемішували за тієї ж температури 30 хвилин і за кімнатної температури протягом 18 годин. Після цього додавали в суміш ще трет-бутоксид (30 мг), продовжуючи перемішування ще 2 години. Суміш гасили додаванням води й три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Цільовий продукт одержували у вигляді кремово-жовтої твердої речовини, яка є цільовим продуктом 2-I (80 мг).

Інтермедіат 2-II



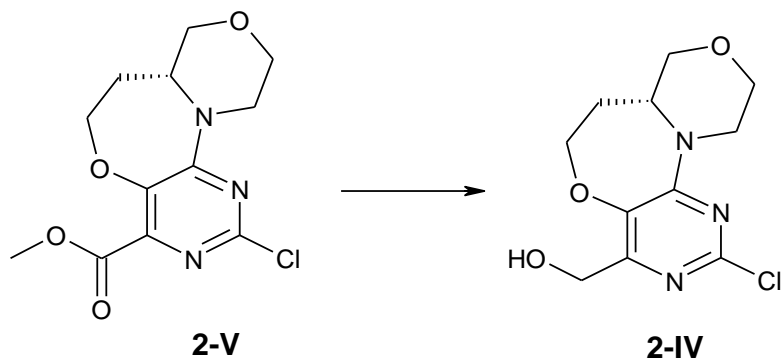
Суміш інтермедіата 2-III (210 мг) і метансульфінату натрію (0.90 мг, 0.89 ммоль) у суміші АсСN:ДМФА (4:1, 2.5 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском при 100°C протягом 18 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, гасили додаванням 1М водного розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ і екстрагували дихлорметаном три рази. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію (25 мл), сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Залишок, який є інтермедіатом 2-II (165 мг), використовували далі на наступній стадії.

Інтермедіат 2-III



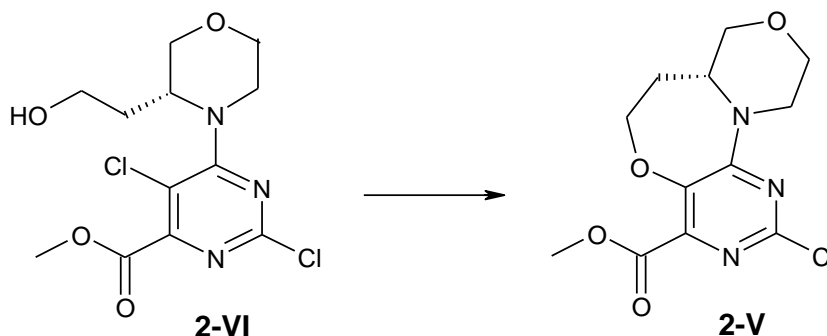
У суміш інтермедіата 2-IV (190 мг) у ДХМ (10 мл) і ТЕА (0.150 мл, 1.0 ммоль) прикапували метансульфонілхлорид (70 мкл, 0.9 ммоль). Отриману суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1.5 годин до зникнення вихідної речовини. Реакційну суміш гасили додаванням води й екстрагували дихлорметаном (3 × 20 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Кремково-жовтогарячу тверду кристалічну речовину, інтермедіат 2-III (210 мг), використовували далі без додаткового очищення.

Інтермедіат 3-IV



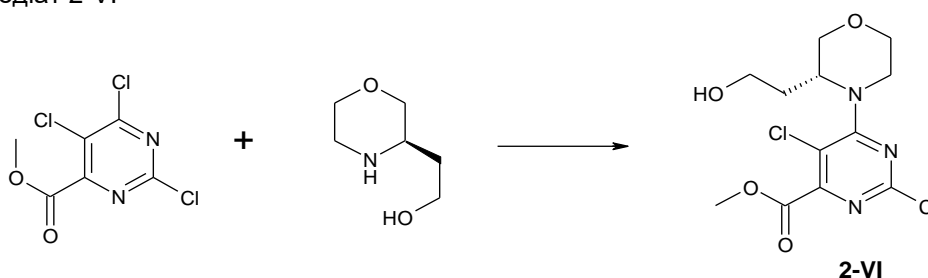
До охолодженого розчину інтермедіату 2-V (0.275 г) у ТГФ (8 мл) додавали 2М розчин LiBH_4 у ТГФ (0.6 мл, 0.12 ммоль). Отриману суміш перемішували при 0°C 30 хвилин і за кімнатної температури 2 години. Реакційну суміш гасили додаванням води й екстрагували етилацетатом три рази. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Продукт, інтермедіат 2-IV, одержували у вигляді кремово-жовтогарячої твердої речовини (190 мг) і використовували далі без додаткового очищення.

Інтермедіат 3-V



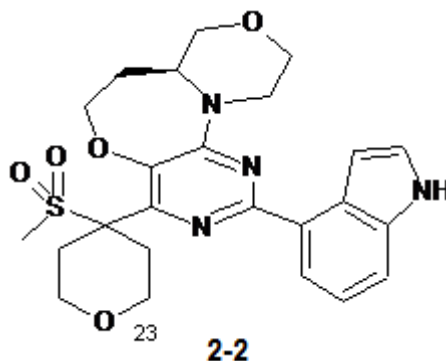
- Суміш інтермедіата 2-VI (869 мг) з Cs_2CO_3 (2.6 мг, 8.1 ммоль) в AcCN (120 мл) кип'ятили (85°C) протягом 18 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури й видаляли розчинники у вакуумі. Залишок знову розчиняли в ДХМ і промивали 1М водним розчином HCl (3 × 25 мл). Органічну фазу промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі, одержуючи світло-жовтогарячу тверду речовину, інтермедіат 2-V (275 мг), який використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

Інтермедіат 2-VI



- Суміш метил 2,5,6-трихлор-4-піримідинкарбоксилату (700 мг, 2.8 ммоль) і (R)-2-(морфолін-3-іл)етанолу гідрохлориду (600 мг, 3.5 ммоль, 60% енантіомерний надлишок (ee)) в EtOH (10 мл) і DIPEA (1.5 мл; 8.6 ммоль) кип'ятили 2 години. Ясно-жовту суміш охолоджували до кімнатної температури й видаляли розчинники у вакуумі. Отриману ясно-жовту олію знову розчиняли в ДХМ (60 мл), промивали насич. водн. NaHCO_3 (2 × 50 мл), водою (2 × 50 мл) і насиченим водним розчином хлориду натрію (50 мл). Органічну фазу сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі, одержуючи цільовий продукт у вигляді світло жовтої олії, інтермедіату 2-VI (860 мг), який використовували далі без додаткового очищення.

ПРИКЛАД 23



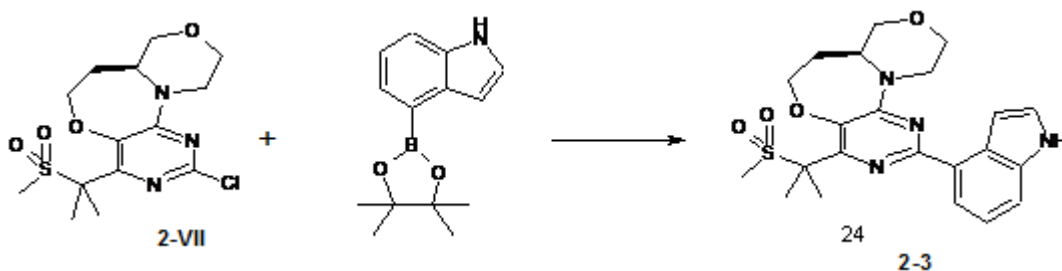
- Приклад 23 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для сполуки 2-1, але використовуючи (S)-2-(морфолін-3-іл)етанолу гідрохлорид (60% ee) як вихідну речовину на стадії 1.

LCMS1, t_R = 4.71 хв., MS: 485.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 11.24 (с, 1H), 7.97 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.50 (д, J = 8.0 Гц, 1H), 7.43 (с, 1H), 7.23 (с, 1H), 7.17 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.24 (т, J = 5.4 Гц, 2H), 4.09 – 3.70 (м, 8H), 3.50 (дд, J = 11.3, 7.0 Гц, 1H), 3.30 – 3.11 (м, 4H), 2.85 (с, 3H), 2.24 – 1.93 (м, 4H).

$[\alpha]_D^{25}$ = +8 (с 0.227, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1) з енантіомерним надлишком приблизно 60%.

ПРИКЛАД 24



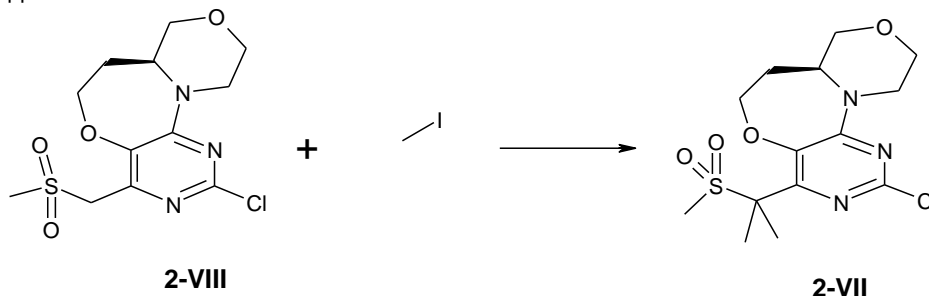
Суміш інтермедіата 2-VII (50 мг), піналового ефіру індол-4-боронової кислоти (40 мг, 0.16 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (15 мг) і 2М водного розчину Na_2CO_3 (0.3 мл, 0.6 ммоль) у диоксані (2 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакції під тиском при 85°C 3 години. Темну реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном, і фільтрат випаровували у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 50% до 100% EtOAc). Поєднували фракції, що містять цільовий продукт, і випаровували у вакуумі. Зазначене в заголовку сполуку одержували у вигляді кремової твердої речовини, яку двічі розтирали з діетиловим ефіром і сушили у вакуумі, одержуючи цільовий продукт, Приклад 24, у вигляді білої твердої речовини (6 мг).

LCMS1, $t_R = 5.01$ хв., MS: 443.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 11.16 (с, 1H), 7.92 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.43 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.37 (с, 1H), 7.24 (с, 1H), 7.11 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 4.18 (т, $J = 5.8$ Гц, 2H), 4.00 (д, $J = 13.0$ Гц, 1H), 3.90 – 3.79 (м, 1H), 3.79 – 3.66 (м, 3H), 3.61 – 3.48 (м, 1H), 3.37 (т, $J = 10.2$ Гц, 1H), 2.88 (с, 3H), 2.08 – 1.89 (м, 2H), 1.84 (с, 6H).

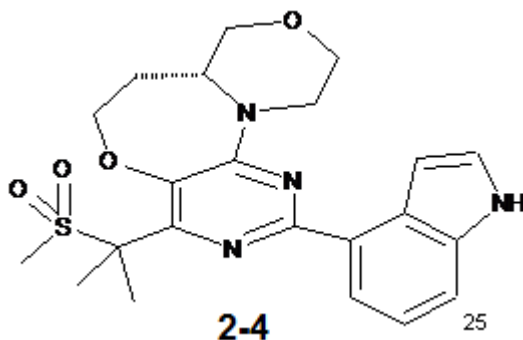
$[\alpha]_D^{25} = +6$ (с 0.215, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1) з енантімерним надлишком приблизно 60%.

Інтермедіат 2-VII



До охолодженого (0°C) розчину 2-VIII (80 мг) у ДМФА (2 мл) додавали спочатку трет-бутоксид натрію (25 мг, 0.25 ммоль), і після 5 хвилин перемішування – йодметан (16 мкл, 0.25 ммоль). Отриману суміш перемішували 15 хвилин і здійснювали друге додавання трет-бутоксиду натрію (25 мг, 0.25 ммоль) і йодметана (16 мкл, 0.25 ммоль). Суміш перемішували 2 години й гасили додаванням води. Суміш екстрагували дихлорметаном три рази. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 . Сирий продукт, Інтермедіат 2-VII (50 мг), використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

ПРИКЛАД 25



Повторювали методику синтезу, використану для Прикладу 24, використовуючи інтермедіат XLI, для одержання Прикладу 25.

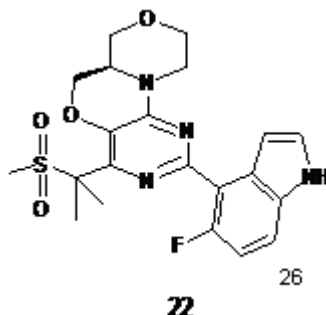
LCMS1, $t_R = 4.99$ хв., MS: 443.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 11.23 (с, 1H), 7.98 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.50 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.43

(т, J = 2.5 Гц, 1H), 7.31 (с, 1H), 7.17 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 4.25 (т, J = 5.6 Гц, 2H), 4.07 (д, J = 13.6 Гц, 1H), 3.97 – 3.87 (м, 1H), 3.87 – 3.72 (м, 3H), 3.69 – 3.56 (м, 1H), 3.44 (т, J = 10.3 Гц, 1H), 2.95 (с, 3H), 2.12 – 1.96 (м, 2H), 1.91 (с, 6H).

$[\alpha]_D^{25} = -6$ (с 0.317, CHCl₃/MeOH 9:1) з енантімерним надлишком приблизно 60%.

5 ПРИКЛАД 26

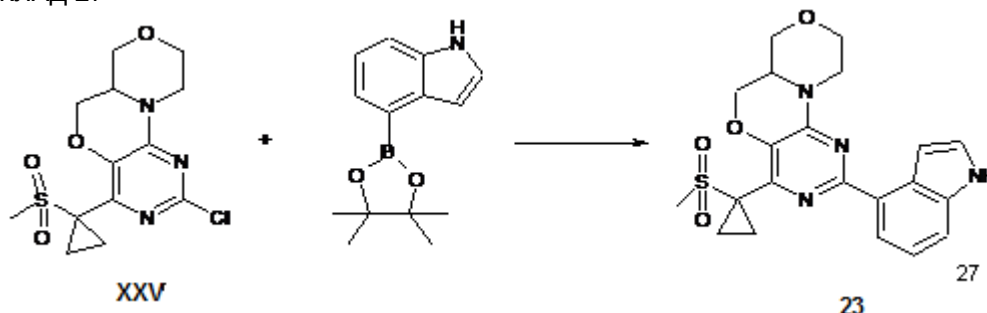


Приклад 26 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 14, застосовуючи як прекурсор 3(S)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1: $t_R = 4.77$ хв., MS: = 447.1 [M+H]⁺.

10 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.23 (с, 1H), 7.51 – 7.34 (м, 2H), 6.97 (дд, J = 11.2, 8.8 Гц, 1H), 6.80 (с, 1H), 4.49 – 4.35 (м, 2H), 4.02 – 3.63 (м, 4H), 3.50 – 3.37 (м, 1H), 3.21-3.09 (м, 1H), 3.09 – 2.91 (м, 1H), 2.96 (с, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.81 (с, 3H).

ПРИКЛАД 27

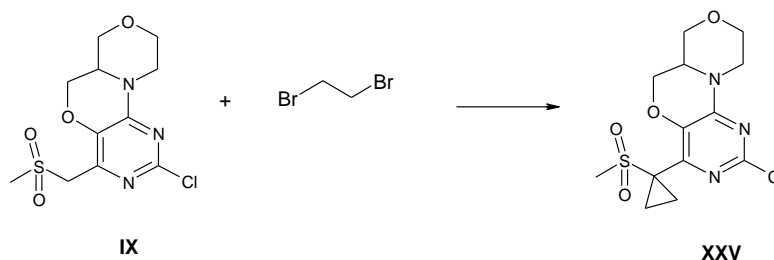


15 Суміш інтермедіату XXV (15 мг, 0.043 ммоль) з пінаколовим ефіром індол-4-боронової кислоти (13 мг, 0.052 ммоль), дихлорбіс(трифенілфосфін)паладій(II) (6 мг, 0.009 ммоль) і 2М водний розчин Na₂CO₃ (0.1 мл) у диоксані (0.5 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакції під тиском протягом 3 годин. Суміш темного кольору охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водою (10 мл) і екстрагували етилацетатом (2 × 10 мл). Органічні шари промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 50% до 100% EtOAc), одержуючи 3 мг кінцевого продукту, Прикладу 27.

LC-MS1: $t_R = 4.08$ хв.; M+1 = 427.1.

25 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.14 (с, 1H), 7.91 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.41 (д, J = 8.0 Гц, 1H), 7.35 (розшир.с, 1H), 7.28 (с, 1H), 7.09 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.47 (м, 1H), 4.36 (м, 1H), 3.98 (м, 1H), 3.86 (м, 2H), 3.67 (м, 1H), 3.50 (м, 1H), 3.21-3.01 (м, 2H), 3.02 (с, 3H), 1.64 (розшир.с, 2H), 1.35 (розшир.с, 2H).

Інтермедіат XXV

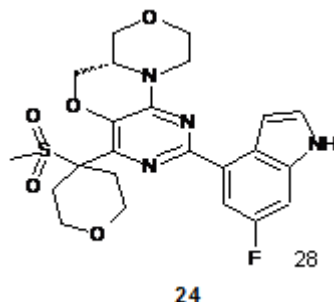


30

Свіжоприготовлений розчин NaOH (4н.) (0.547 мл) додавали до розчину інтермедіату IX (70 мг, 0.219 ммоль), диброметану (0.038 мл, 0.438 ммоль) і ТВАВ (14 мг, 0.044 ммоль) у толуолі (3 мл). Суміш перемішували при 80°C у мікрохвильовій пробірці протягом 2 годин, і при 110°C (піщана баня) у мікрохвильовій пробірці 16 годин. Після охолодження реакційну суміш

розбавляли етилацетатом і промивали водою й насиченим водним розчином хлориду натрію. Органічний шар сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 20% до 80% EtOAc), одержуючи 15 мг цільового інтермедіата XXV.

5 ПРИКЛАД 28

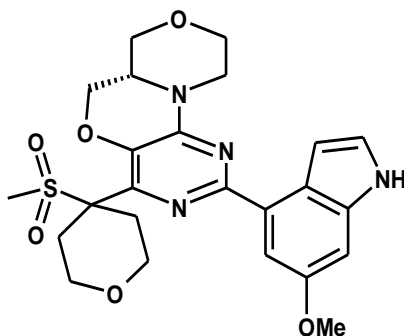


Приклад 28 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 17, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1 $t_R = 4.76$ хв., MS: 489.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

10 ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.22 (с, 1H), 7.65 (д, $J = 13.7$ Гц, 1H), 7.42 – 7.30 (м, 1H), 7.25 – 7.12 (м, 2H), 4.54 (д, $J = 14.8$ Гц, 1H), 4.32 (д, $J = 10.6$ Гц, 1H), 4.00 (д, $J = 11.7$ Гц, 1H), 3.95 – 3.78 (м, 4H), 3.78 – 3.66 (м, 1H), 3.51 (т, $J = 10.9$ Гц, 1H), 3.22 – 3.03 (м, 6H), 2.80 (с, 3H), 2.11 – 2.02 (м, 2H).

ПРИКЛАД 29

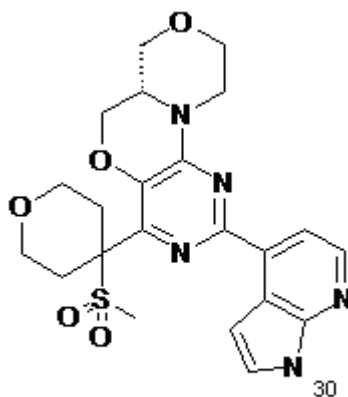


15 Приклад 29 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 19, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1, $t_R = 4.5$ хв., MS: 501 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20 ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.01 (с, 1H), 7.57 (д, $J = 2.2$ Гц, 1H), 7.29 – 7.24 (м, 1H), 7.12 (с, 1H), 7.01 (д, $J = 1.8$ Гц, 1H), 4.60 (д, $J = 13.1$ Гц, 1H), 4.38 (дд, $J = 10.7, 3.1$ Гц, 1H), 4.07 (дд, $J = 11.4, 2.7$ Гц, 1H), 4.00 – 3.83 (м, 5H), 3.80 (с, 3H), 3.58 (тд, $J = 11.7, 1.9$ Гц, 1H), 3.30 – 3.09 (м, 6H), 2.86 (с, 3H), 2.17 – 2.03 (м, 2H).

ПРИКЛАД 30

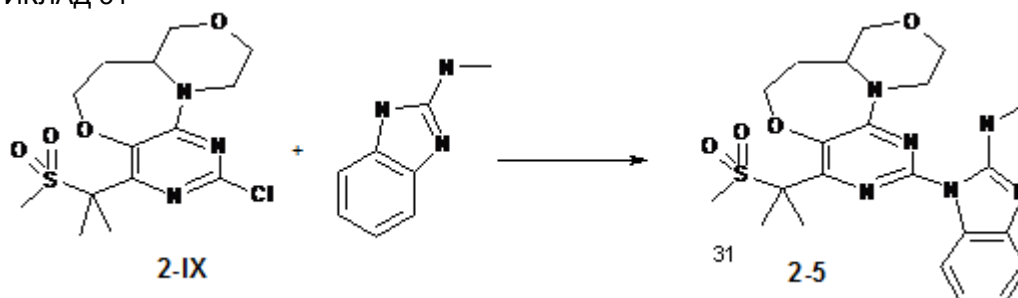


25 Приклад 30 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 18, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LCMS1, $t_R = 3.3$ хв. MS: 472.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.69 (с, 1H), 8.23 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 7.80 (д, J = 5.0 Гц, 1H), 7.53 – 7.37 (м, 1H), 7.14 – 6.98 (м, 1H), 4.56 (д, J = 12.8 Гц, 1H), 4.34 (дд, J = 10.8, 3.1 Гц, 1H), 4.01 (дд, J = 11.6, 3.0 Гц, 1H), 3.96 – 3.79 (м, 4H), 3.78 – 3.67 (м, 1H), 3.52 (т, J = 10.7 Гц, 1H), 3.26 – 3.03 (м, 6H), 2.80 (с, 3H), 2.14 – 1.95 (м, 2H).

5 ПРИКЛАД 31

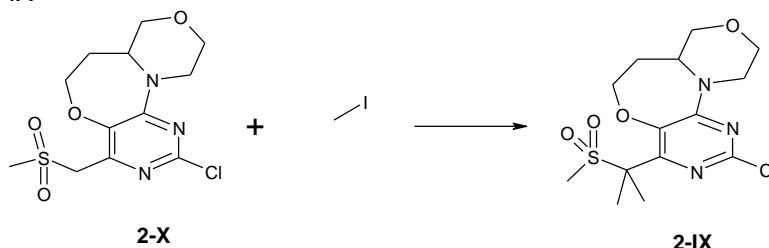


До суспензії інтермедіата 2-VII (90 мг, 0.249 ммоль) в ACN (1.5 мл) і ДМФА (0.15 мл) додавали N-метил-1H-1,2-амін (73 мг, 0.497 ммоль) і Cs₂CO₃ (400 мг, 1.244 ммоль). Реакційну суміш нагрівали в герметично закритій пробірці при 130°C 3 дні. Після охолодження додавали H₂O (50 мл), і суміш екстрагували етилацетатом (2 × 40 мл). Органічні шари висушували, фільтрували й випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 20% до 80% EtOAc у ДХМ) і розтирали в Et₂O, одержуючи кінцевий продукт 31 у вигляді білої твердої речовини (50 мг).

LCMS1, t_R = 3.12 хв., MS: 473.2 [M+H]⁺.

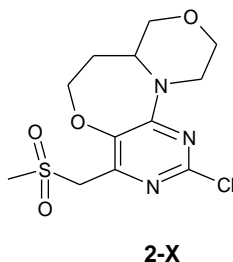
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.17 (кВ, J = 4.9 Гц, 1H), 8.01 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.25 (д, J = 7.3 Гц, 1H), 7.07 (т, J = 7.0 Гц, 1H), 6.97 (т, J = 7.6 Гц, 1H), 4.26 (м, 2H), 3.99 (м, 3H), 3.87 – 3.72 (м, 2H), 3.60 (м, 1H), 3.47 (м, 1H), 3.01 (м, 6H), 2.22 – 1.95 (м, 2H), 1.85 (м, 6H).

Інтермедіат 2-IX



До розчину 2-X (90 мг, 0.270 ммоль) у ДМФА (2.2 мл) при 0°C додавали K^tBuO (32 мг, 0.566 ммоль) і MeI (18 мкл). Реакційну суміш перемішували при 0°C 15 хвилин і додавали K^tBuO (32 мг, 0.566 ммоль) і MeI (18 мкл). Суміш перемішували за кімнатної температури 1 годину. Додавали 1M HCl (20 мл), і суміш екстрагували дихлорметаном (3 × 40 мл). Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували. Сирий продукт, інтермедіат 2-IX (100 мг), використовували в наступній стадії без додаткового очищення.

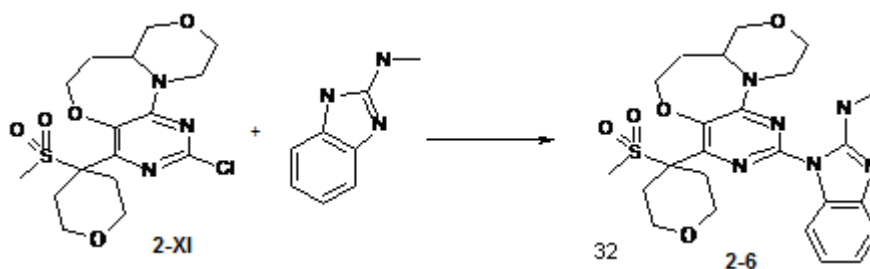
Інтермедіат 2-X



2-X

Інтермедіат 2-х синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для інтермедіата 2-II, але використовуючи рацемічний 2-(морфолін-3-іл)етанолу гідрохлорид як вихідну речовину на стадії 1.

ПРИКЛАД 32

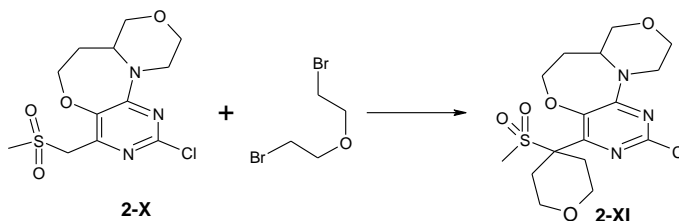


До суспензії інтермедіата 2-XI (70 мг, 0.173 ммоль) в ACN (1.5 мл) і ДМФА (0.15 мл) додавали N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-амін (51 мг, 0.347 ммоль) і Cs₂CO₃ (282 мг, 0.867 ммоль). Реакційну суміш нагрівали в герметично закритій пробірці при 130°C 40 годин. Після охолодження додавали H₂O (50 мл) і EtOAc (40 мл). На межі поділу фаз з'являлася тверда речовина, яку відфільтровували й промивали EtOAc і Et₂O, одержуючи кінцевий продукт 32 у вигляді білої твердої речовини (35 мг).

LC-MS1, t_R = 3.98 хв., MS: 515.2 [M+H]⁺.

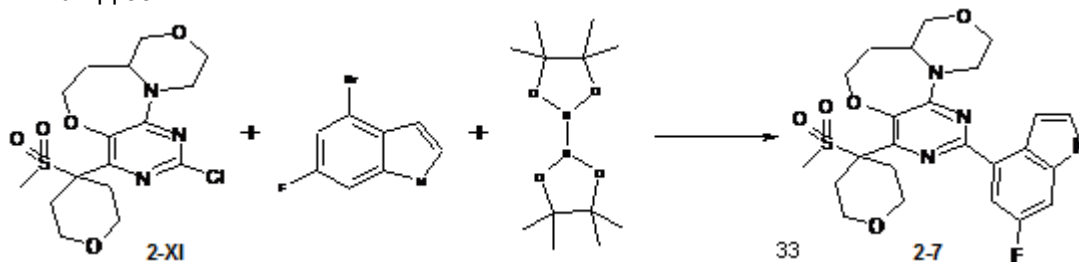
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.97 (д, J = 7.6 Гц, 1H), 7.88 (кв, J = 4.9 Гц, 1H), 7.25 (д, J = 7.3 Гц, 1H), 7.07 (т, J = 7.1 Гц, 1H), 6.98 (т, J = 7.6 Гц, 1H), 4.43 – 4.29 (м, 1H), 4.24 (м, 1H), 4.10 – 3.76 (м, 8H), 3.56 (м, 1H), 3.46 – 3.36 (м, 2H), 3.03 (м, 1H), 2.99 (д, J = 4.9Hz, 3H), 2.94 (с, 3H), 2.89 (м, 1H), 2.30 – 1.96 (м, 4H).

Інтермедіат 2-XI



До охолодженої суміші інтермедіата 2-X (280 мг, 0.839 ммоль) і біс(2-брометил)ового ефіру (265 мкл, 2.097 ммоль) у ДМФА (4 мл) додавали в один прийом трет-бутоксид натрію (282 мг, 2.517 ммоль). Темно-коричневу суміш перемішували при 0°C 30 хвилин і за кімнатної температури 20 годин. Після закінчення цього часу додавали ще трет-бутоксид (140 мг), і перемішування продовжували ще 20 годин. Суміш гасили додаванням води (25 мл) і HCl 1M (15 мл), і суміш три рази екстрагували етилацетатом (75 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na₂SO₄ і випаровували у вакуумі. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 10% до 20% EtOAc/ДХМ), одержуючи проміжний продукт 2-XI у вигляді жовтої твердої речовини (170 мг).

ПРИКЛАД 33

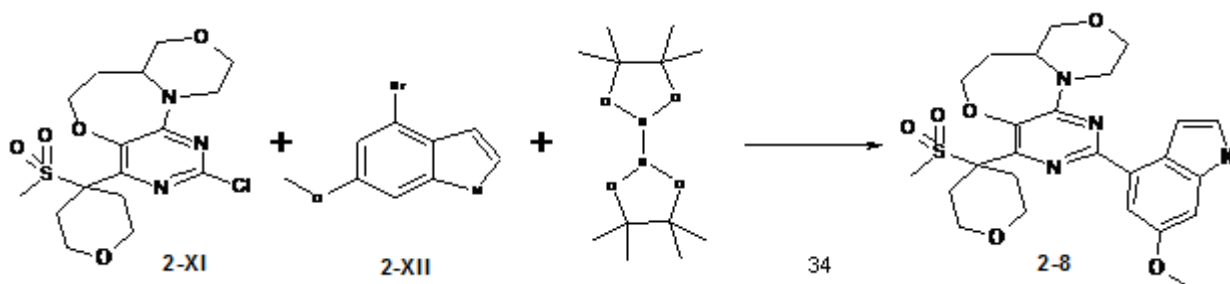


Суміш 4-бром-6-фтор-1H-індолу (32 мг, 0.149 ммоль), біс(пінаcolato)диборону (79 мг, 0.309 ммоль), KOAc (36 мг, 0.371 ммоль) і PdCl₂(dppf) (20 мг, 0.025 ммоль) у диоксані (1.3 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 3 години. Після охолодження додавали інтермедіат 2-XI (50 мг, 0.124 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (14 мг, 0.012 ммоль) і 2M розчин Na₂CO₃ (0.25 мл). Реакційну суміш нагрівали при 100°C 20 годин. Після охолодження суміш очищали методом флеш-хроматографії (від 5% до 20% EtOAc у ДХМ) і розтирали в Et₂O, одержуючи кінцеву сполуку 33 у вигляді білої твердої речовини (30 мг).

LC-MS1, t_R = 4.95 хв., MS: 503.2 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.32 (с, 1H), 7.74 (д, J = 11.4 Гц, 1H), 7.45 (с, 1H), 7.30 (д, J = 9.4 Гц, 1H), 7.23 (с, 1H), 4.26 (с, 2H), 4.05-3.71 (м, 8H), 3.52 (м, 1H), 3.56-3.09 (м, 4H), 2.86 (с, 3H), 2.27-1.96 (м, 4H).

ПРИКЛАД 34

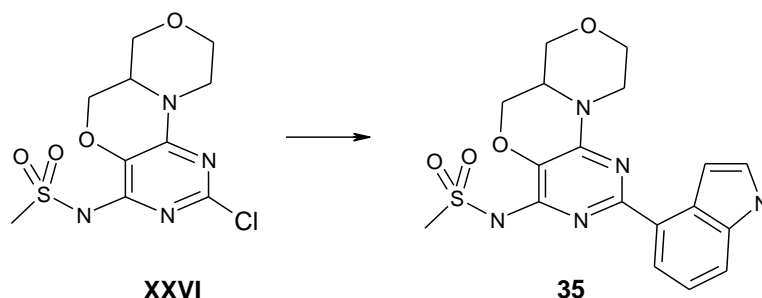


Приклад 34 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 33, реакцією комбінації сполуки 2-XII (CAS:393553-55-4).

LCMS1, $t_R = 4.72$ хв., MS: 515.2 $[M+H]^+$.

5 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.04 (с, 1H), 7.59 (д, $J = 2.2$ Гц, 1H), 7.29 (с, 1H), 7.12 (с, 1H), 7.03 (с, 1H), 4.24 (м, 2H), 4.11 - 3.79 (м, 8H), 3.79 (с, 3H), 3.56 - 3.44 (м, 1H), 3.21 (м, 4H), 2.85 (с, 3H), 2.14 (м, 4H).

ПРИКЛАД 35

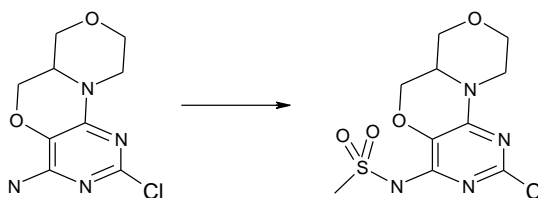


10 Суміш інтермедіата XXVI (40 мг, 0.125 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової кислоти (40 мг, 0.162 ммоль), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (18 мг, 0.025 ммоль) і 2М розчину Na_2CO_3 (0.25 мл) у діоксані (1 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100 °С 4 години. Після охолодження суміш очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 10% MeOH у ДХМ), одержуючи кінцевий продукт 35 у вигляді жовтої твердої речовини (10 мг).

15 LC-MS1: $t_R = 4.17$ хв., $M+1 = 402.5$.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.11 (с, 1H), 7.85 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.44 - 7.28 (м, 4H), 7.08 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 4.38 (м, 1H), 4.30 (м, 1H), 3.96 (м, 1H), 3.84 (м, 2H), 3.53 (м, 2H), 3.34 (с, 4H), 3.22 - 3.12 (м, 2H), 3.00 (с, 1H).

Інтермедіат XXVI

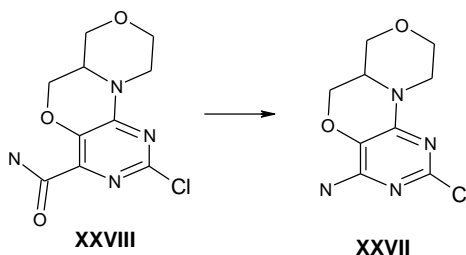


20

До розчину інтермедіату XXVII (30 мг, 0.124 ммоль) у ДМФА (1 мл) додавали NaH 60% (12 мг, 0.309 ммоль) при 0°C. Суміш перемішували 20 хвилин і додавали $MeSO_2Cl$ (20 мкл, 0.247 ммоль). Реакційну суміш залишали нагріватися до кімнатної температури й перемішували протягом 20 годин. Після закінчення цього часу додавали ще $MeSO_2Cl$ (20 мкл, 0.247 ммоль), і суміш перемішували 30 хвилин. Додавали воду (20 мл) і етилацетат (2×20 мл). Органічні шари висушували над Na_2SO_4 , фільтрували й випаровували, одержуючи проміжний продукт XXVI у вигляді жовтогарячого олії (50 мг).

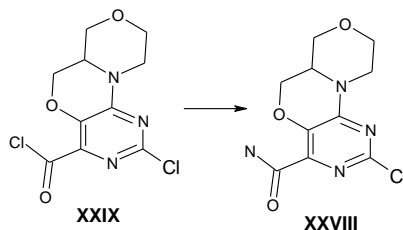
25

Інтермедіат XXVII



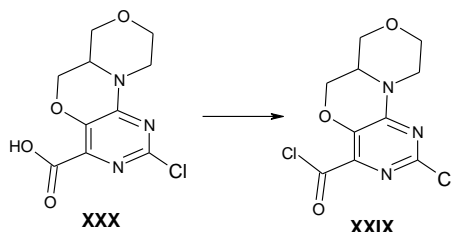
Суміш інтермедіата XXVIII (50 мг, 0.169 ммоль), АСОН (0.5 мл) і Н₂О (0.5 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 30 хвилин. Після охолодження обережно додавали насичений розчин NaHCO₃ (20 мл), і суміш екстрагували етилацетатом (2×15 мл). Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували, одержуючи проміжний продукт XXVII у вигляді білої твердої речовини (30 мг).

Інтермедіат XXVIII



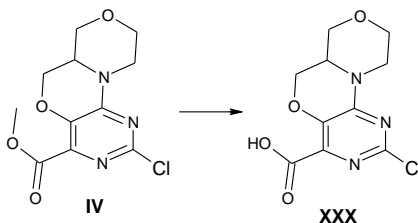
До суспензії інтермедіата XXIX (75 мг, 0.259 ммоль) в ацетоні (2 мл) прикапували розчин NaN₃ (50 мг, 0.776 ммоль) в Н₂О (0.2 мл). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1.5 годин. Додавали воду (5 мл), і суміш екстрагували етилацетатом (2×20 мл). Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували, одержуючи проміжний продукт XXVIII у вигляді жовтої маслянистої твердої речовини (50 мг).

Інтермедіат XXIX



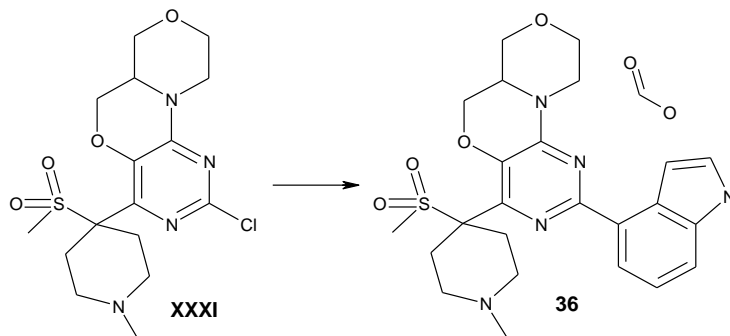
До суспензії інтермедіата XXX (70 мг, 0.258 ммоль) у ДХМ (2 мл) додавали ДМФА (1 краплю). Через 5 хв. додавали оксалілхлорид (2М розчин у ДХМ) (26 мкл) за кімнатної температури. Через 1 годину додавали ще оксалілхлорид (2М розчин у ДХМ) (0.15 мл). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури 10 хвилин і випаровували, одержуючи проміжний продукт XXIX у вигляді жовтої твердої речовини (75 мг).

Інтермедіат XXX



До суспензії інтермедіата IV (200 мг, 0.700 ммоль) у ТГФ (0.2 мл) додавали 0.5н. розчин NaOH (1.7 мл, 0.840 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 3 годин. Додавали конц. HCl до pH~4-5, суспензію відфільтровували й промивали осад водою, одержуючи інтермедіат XXX у вигляді білої твердої речовини (70 мг). Фільтрат екстрагували етилацетатом (30 мл) і сумішшю CHCl₃:PrOH (2×30 мл). Органічні шари висушували, фільтрували й випаровували, одержуючи Інтермедіат XXX у вигляді білої твердої речовини (130 мг).

ПРИКЛАД 36



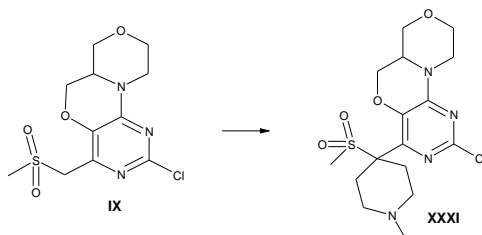
Суміш інтермедіата XXXI (30 мг, 0.074 ммоль), пінаколового ефіру індол-4-боронової

кислоти (25 мг, 0.1 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (10 мг, 0.015 ммоль) і 2М водного розчину Na_2CO_3 (0.150 мл) у диоксані (1 мл) нагрівали при 100°C у герметично закритій пробірці в атмосфері аргону. Суміш темного кольору охолоджували до кімнатної температури й фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Фільтрат випаровували у вакуумі. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 25% до 100% циклогексану в EtOAc) і потім 7М NH_3 у суміші MeOH/ДХМ (від 0% до 10%), одержуючи кінцевий продукт Приклад 36 у вигляді кремової твердої речовини (1.5 мг).

LC-MS1: $t_R = 3.55$ хв., $M+1 = 484.2$.

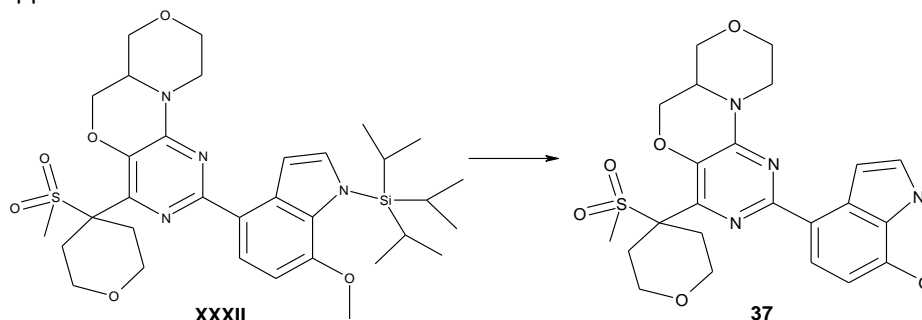
^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.17 (с, 1H), 7.89 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.42 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H), 7.39 – 7.32 (м, 1H), 7.18 (м, 1H), 7.09 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 4.55 (м, 1H), 4.33 (м, 1H), 4.00 (м, 1H), 3.90 – 3.64 (м, 4H), 3.59 – 3.41 (м, 4H), 3.21 – 2.91 (м, 2H), 2.77 (с, 3H), 1.99 (с, 3H), 1.98 – 1.88 (м, 2H), 1.78 (м, 2H).

Інтермедіат XXXI



До розчину інтермедіату IX (50 мг, 0.156 ммоль) і мехлоретаміну гідрохлориду (75 мг, 0.391 ммоль) у ДМФА (3 мл), охолоджену до 0°C , порціями додавали трет-бутоксид натрію (75 мг, 0.782 ммоль). Отриману суміш перемішували при 0°C 30 хвилин і за кімнатної температури протягом 18 годин. Після закінчення цього часу додавали ще трет-бутоксид натрію (70 мг, 0.728 ммоль) в один прийом. Отриману темну суміш перемішували 1 годину, гасили додаванням води, і три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі, одержуючи інтермедіат XXXI (30 мг).

ПРИКЛАД 37

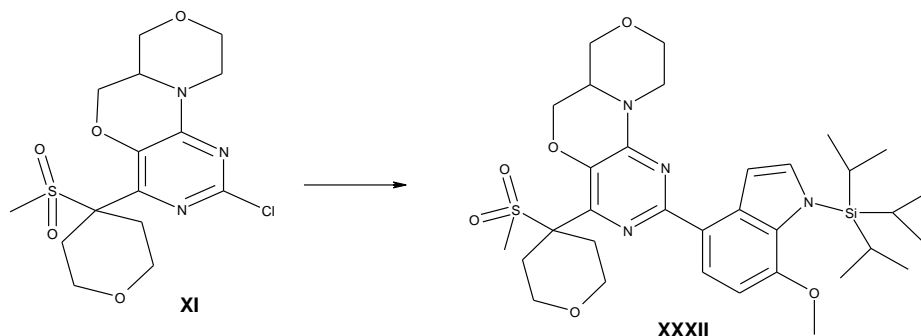


До розчину інтермедіату XXXII (30 мг, 0.046 ммоль) у ТГФ (1 мл) додавали 1М розчин ТВАФ у ТГФ (55 мкл, 0.055 ммоль). Отриману суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1 години. Реакційну суміш гасили додаванням води й три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 25% до 100% циклогексану в EtOAc), одержуючи кінцевий продукт Приклад 37 у вигляді білої твердої речовини (4 мг).

LC-MS1: $t_R = 4.68$ хв., $M+1 = 501.2$.

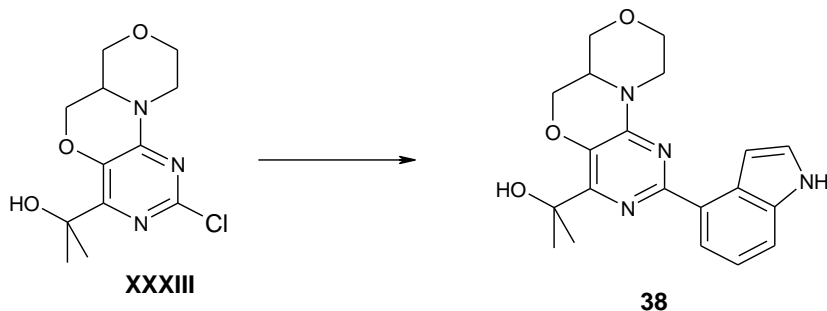
^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.25 (с, 1H), 7.87 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H), 7.24 (т, $J = 2.6$ Гц, 1H), 7.14 (с, 1H), 6.67 (д, $J = 8.3$ Гц, 1H), 4.55 (м, 1H), 4.29 (м, 1H), 4.01 (м, 1H), 3.90 (с, 3H), 3.89 – 3.64 (м, 5H), 3.51 (м, 1H), 3.28-3.09 (м, 6H), 2.79 (с, 3H), 2.13 – 1.98 (м, 2H).

Інтермедіат XXXII



Суміш інтермедіата XI (50 мг, 0.128 ммоль), біс(пінаcolato)диборону (81 мг, 0.321 ммоль), KOAc (38 мг, 0.385 ммоль) і $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (11 мг, 0.013 ммоль) у диоксані (1.5 мл) нагрівали при 100°C 3 години. Суміш темного кольору охолоджували до кімнатної температури й додавали 4-бром-7-метокси-1-триізопропілсиланіл-1H-індол (50 мг, 0.154 ммоль), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (13 мг, 0.013 ммоль) і 2М водний розчин Na_2CO_3 (0.2 мл). Отриману суміш нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском при 100°C протягом 18 годин. Суміш темного кольору охолоджували до кімнатної температури й фільтрували крізь шар целіту. Фільтрат випаровували у вакуумі. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 10% до 60% циклогексану в EtOAc), одержуючи Інтермедіат XXXII у вигляді кремової твердої речовини (30 мг).

ПРИКЛАД 38

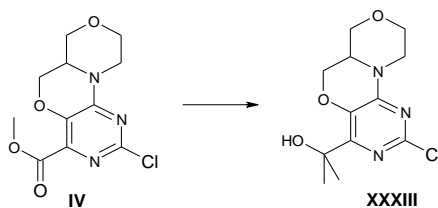


Суміш інтермедіата XXXIII (45 мг, 0.157 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової кислоти (50 мг, 0.205 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (22 мг, 0.031 ммоль) і Na_2CO_3 2М (0.32 мл) у диоксані (1 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 5 годин. Після охолодження суміш очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 5% MeOH у ДХМ), одержуючи кінцевий продукт, Прикладу 38, у вигляді білої твердої речовини (10 мг).

LC-MS1: $t_R = 2.87$ хв., $M+1 = 367.1$.

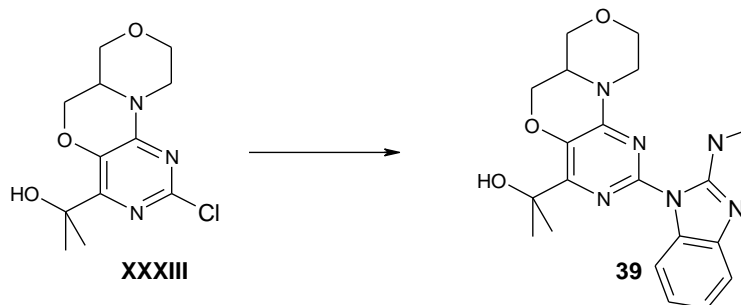
^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.24 (с, 1H), 7.97 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.48 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 7.44 (т, $J = 2.7$ Гц, 1H), 7.20 (с, 1H), 7.16 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 5.51 (с, 1H), 4.52 (м, 1H), 4.41 (м, 1H), 4.05 (м, 1H), 3.99 – 3.86 (м, 2H), 3.72 (с, 1H), 3.57 (м, 1H), 3.17 (м, 3H), 1.51 (с, 6H).

Інтермедіат XXXIII



До суспензії інтермедіата IV (100 мг, 0.350 ммоль) у ТГФ (1.5 мл) при 0°C прикапували MeMgBr (3М розчин в Et_2O , 0.29 мл, 0.875 ммоль). Реакційну суміш перемішували при 0°C 15 хвилин і за кімнатної температури 1 година. Реакційну суміш виливали в насичений розчин NaHCO_3 (10 мл) і екстрагували етилацетатом (2x20 мл). Органічні шари висушували над Na_2SO_4 , фільтрували й випаровували, одержуючи інтермедіат XXXIII у вигляді жовтої твердої речовини (95 мг).

ПРИКЛАД 39

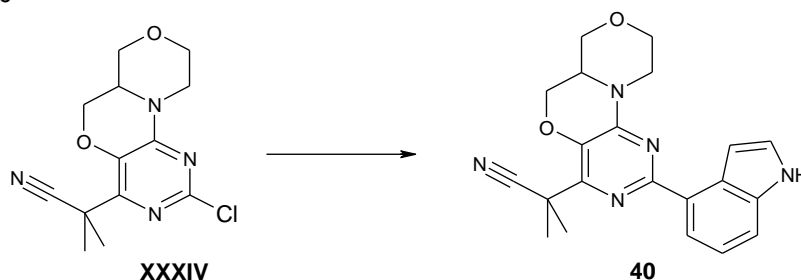


До суспензії інтермедіата XXXIII (45 мг, 0.157 ммоль) в АСН (1 мл) і ДМФА (0.1 мл) додавали N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-амін (46 мг, 0.315 ммоль) і Cs₂CO₃ (257 мг, 0.787 ммоль). Реакційну суміш нагрівали в герметично закритій пробірці при 130°C 40 годин. Після охолодження додавали воду (35 мл), і суміш екстрагували етилацетатом (2 × 30 мл). Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 30% EtOAc у ДХМ і від 0% до 5% MeOH у ДХМ), одержуючи кінцевий продукт, Прикладу 39, у вигляді білої твердої речовини (38 мг).

LC-MS1: t_R = 3.02 хв., M+1 = 397.2.

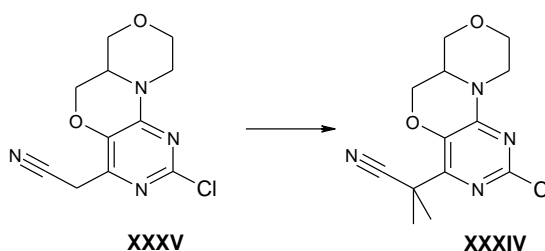
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.89 (д, J = 4.9 Гц, 1H), 8.14 (д, J=7.5 Гц, 1H), 7.24 (д, J=7.2 Гц, 1H), 7.07 (т, J=7.0 Гц, 1H), 6.97 (т, J=7.1 Гц, 1H), 5.22 (с, 1H), 4.50–4.28 (м, 2H), 4.07 (м, 1H), 4.01 – 3.90 (м, 1H), 3.86 (м, 1H), 3.79 (м, 1H), 3.58 (м, 1H), 3.23 (м, 2H), 3.05 (м, 3H), 1.52 (с, 5H).

ПРИКЛАД 40



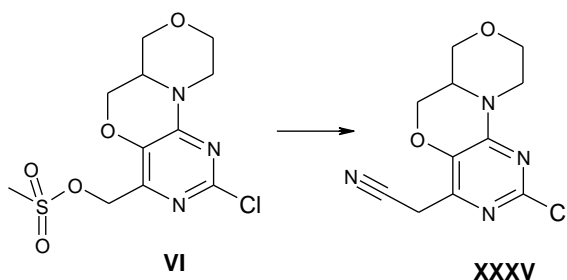
У дегазовану суміш інтермедіата XXXIV (45 мг, 0.153 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової кислоти (50 мг, 0.198 ммоль) і 2М водного розчину Na₂CO₃ (0.5 мл) у диоксані (1.5 мл) додавали дихлорбіс(трифенілфосфін)паладій(II) (21 мг, 0.031 ммоль). Суміш нагрівали в герметично закритій посудині при кип'ятінні протягом 3 годин. Додавали воду (35 мл), і суміш екстрагували сумішшю ДХМ/MeOH 9:1. Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 6% ДХМ в MeOH), одержуючи кінцевий продукт Прикладу 40 (15 мг).

Інтермедіат XXXIV



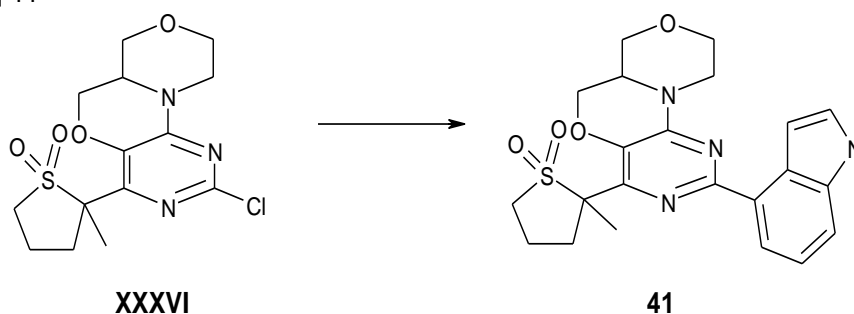
У суміш інтермедіата XXXV (50 мг, 0.187 ммоль) і MeI (0.05 мл, 0.803 ммоль) у сухому ДМФА (1 мл) при 0°C додавали NaOtBu (60 мг, 0.562 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Додавали насичений розчин NaHCO₃, і суміш екстрагували етилацетатом. Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували, одержуючи інтермедіат XXXIV (45 мг).

Інтермедіат XXXV



До розчину інтермедіату VI (200 мг, 0.596 ммоль) у ДМФА (4 мл) додавали NaCN (35 мг, 0.715 ммоль) за кімнатної температури. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Після додавання води відфільтровували твердий осад, і
 5 фільтрат екстрагували етилацетатом. Органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували, одержуючи інтермедіат XXXV (50 мг).

ПРИКЛАД 41

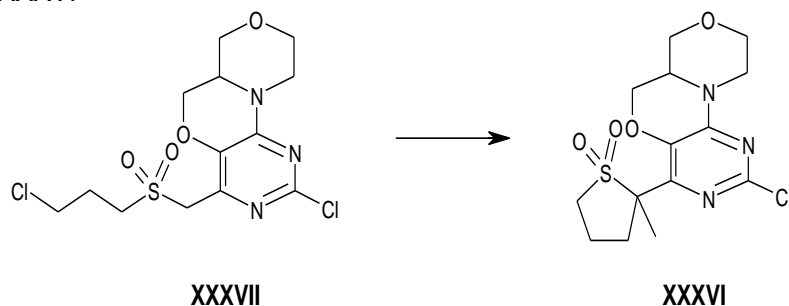


Суміш інтермедіата XXXVI (134 мг, 0.372 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової
 10 кислоти (109 мг, 0.447 ммоль), PdCl₂(PPh₃)₂ (52 мг, 0.074 ммоль) і 2М водного розчину Na₂CO₃ (0.745 мл) в 1,4-диоксані (2.55 мл) нагрівали при 110°C у герметично закритій пробірці на піщаній бані 3 години. Після охолодження реакційну суміш розділяли між H₂O і ДХМ. Водний шар екстрагували 3 рази дихлорметаном. Об'єднані органічні екстракти сушили (Na₂SO₄),
 15 фільтрували й випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії, спочатку (від 0% до 10% MeOH у ДХМ) і потім (від 0% до 100% EtOAc у циклогексані), одержуючи кінцевий продукт Приклад 41 у вигляді ясно-жовтої твердої речовини (30 мг).

LC-MS: t_R = 4.92 & 5.00 хв., M+1 = 441.3.

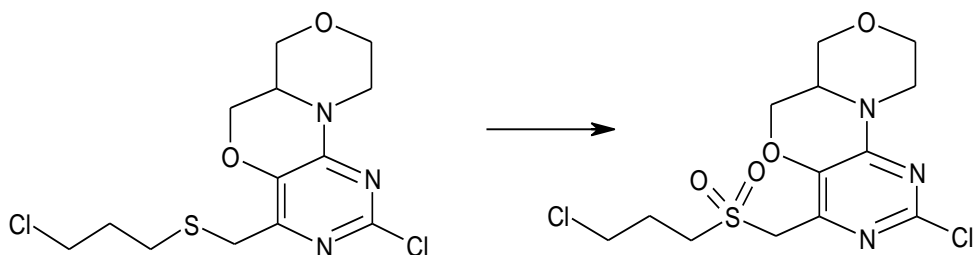
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.23 (с, 1H), 8.03 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.49 (д, J = 8.0 Гц, 1H), 7.43
 (т, J = 2.5 Гц, 1H), 7.31 (с, 1H), 7.17 (т, J = 7.8 Гц, 1H), 4.57 (м, 1H), 4.43 – 4.30 (м, 1H), 4.11 – 3.99
 20 (м, 1H), 3.93 (м, 1H), 3.73 (м, 1H), 3.56 (м, 1H), 3.44 – 3.32 (м, 2H), 3.28 – 3.07 (м, 4H), 2.25 – 2.06
 (м, 3H), 1.73 (с, 3H).

Інтермедіат XXXVI



NaOtBu (54 мг, 0.557 ммоль) додавали в суміш інтермедіата XXXVI (142 мг, 0.371 ммоль) і
 25 ДМФА (37 мл) при 0°C. Реакційну суміш перемішували 30 хвилин при 0°C і за кімнатної температури ще 30 хвилин. Додаткову кількість NaOtBu (24 мг, 0.248 ммоль) додавали в реакційну суміш, після чого додавали MeI (0.023 мл, 0.371 ммоль) при 0°C. Реакційну суміш перемішували 30 хвилин при 0°C і потім за кімнатної температури ще 2 години. Додавали в реакційну суміш воду й екстрагували етилацетатом (×3). Об'єднані органічні екстракти сушили
 30 (Na₂SO₄), фільтрували й випаровували, одержуючи інтермедіат XXXVII (134 мг).

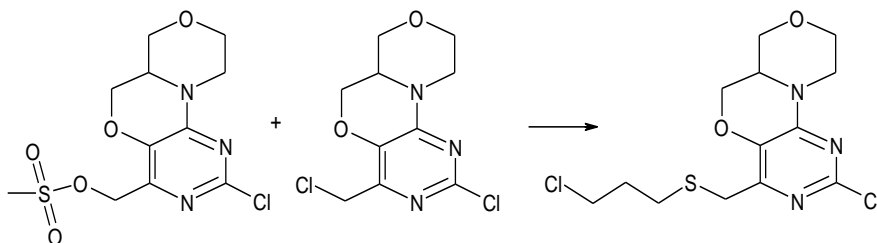
Інтермедіат XXXVII



XXXVIII

XXXVII

У суміш інтермедіата XXXVIII (209 мг, 0.597 ммоль) у диоксані (18.40 мл) і H₂O (4.60 мл), додавали mCPBA (113 мг, 0.656 ммоль), і потім KMnO₄ (127 мг, 0.776 ммоль) за кімнатної температури. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури 5 годин. Додаткову кількість mCPBA (50 мг, 0.290 ммоль) і KMnO₄ (60 мг, 0.367 ммоль) додавали в реакційну суміш і перемішували за кімнатної температури 16 годин. Додаткову кількість mCPBA (20 мг, 0.116 ммоль) і KMnO₄ (30 мг, 0.184 ммоль) додавали в реакційну суміш і перемішували за кімнатної температури ще 3 години. Реакційну суміш гасили 10%-ним водним розчином Na₂S₂O₃ і 3 рази екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили (Na₂SO₄), фільтрували й випаровували, одержуючи Інтермедіат XXXV (230 мг). Інтермедіат XXXVIII



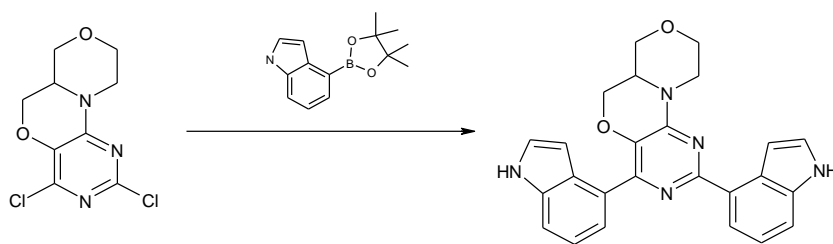
VI

VII

XXXVIII

Суміш інтермедіатів VI і VII (200 мг, 0.596 ммоль), 3-хлор-1-пропантіолу (79 мг, 0.715 ммоль) і DIPEA (0.21 мл, 1.198 ммоль) у ДХМ (11 мл) нагрівали при 50°C у герметично закритій пробірці на піщаній бані 16 годин. Додаткову кількість 3-хлор-1-пропантіолу (40 мг, 0.362 ммоль) і DIPEA (0.1 мл, 0.570) додавали в реакційну суміш і нагрівали при 50°C 72 години. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і промивали насиченим водним розчином NaHCO₃ і насиченим розчином хлориду натрію. Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували й випаровували, одержуючи Інтермедіат XXXVIII (209 мг).

ПРИКЛАД 42



XXXIX

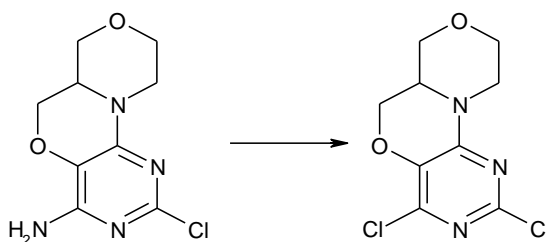
42

Суміш інтермедіата XXXIX (30 мг, 0.114 ммоль), пінаколового ефіру індол-4-боронової кислоти (33 мг, 0.137 ммоль), PdCl₂(PPh₃)₂ (12 мг, 0.017 ммоль) і Na₂CO₃ 2M (0.175 мл, 0.343 ммоль) у диоксані (0.7 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 1 годину. Після охолодження суміш очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 5% MeOH у ДХМ), одержуючи кінцевий продукт, Прикладу 42, у вигляді білої твердої речовини (10 мг).

LC-MS: t_R = 3.34 хв., M+1 = 424.2.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.20 (с, 1H), 11.16 (с, 1H), 8.09 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.48 (т, J = 7.3 Гц, 2H), 7.41 (м, 4H), 7.19 (м, 2H), 6.60 (с, 1H), 4.61 (м, 1H), 4.31 (м, 1H), 4.11 (м, 1H), 3.95 (м, 2H), 3.78 (м, 1H), 3.63 (м, 1H), 3.26 (м, 2H).

Інтермедіат XXXIX

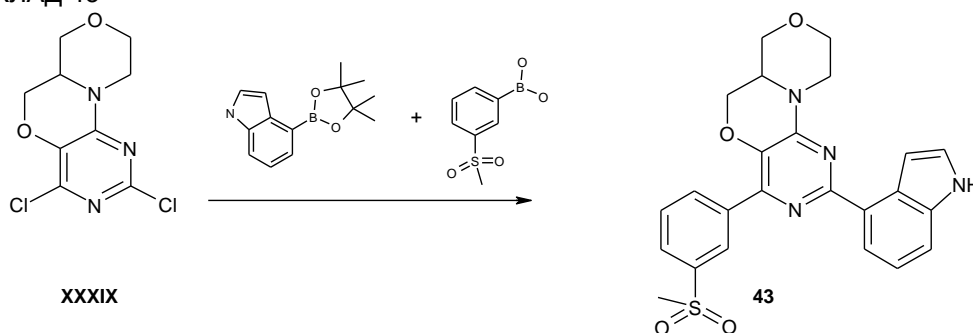


XXVII

XXXIX

- До розчину інтермедіату XXVII (100 мг, 0.412 ммоль) у ДХМ (8 мл) прикапували триметилхлорсилан (470 мкл, 3.709 ммоль). Після перемішування за кімнатної температури протягом 30 хвилин, прикапували ізопентил нітрит (170 мкл, 1.236 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури 90 хвилин. Суміш випаровували, і залишок очищали методом флеш-хроматографії (від 0% до 2% MeOH у ДХМ), одержуючи Інтермедіат XXVII (65 мг).

ПРИКЛАД 43



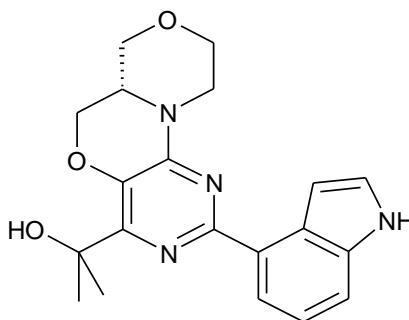
- Суміш інтермедіата XXXIX (35 мг, 0.134 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової кислоти (32 мг, 0.134 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (14 мг, 0.020 ммоль) і Na_2CO_3 2М (0.2 мл) у діоксані (0.8 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 90 хвилин. Додавали $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (14 мг, 0.020 ммоль) і 3-(метилсульфоніл)фенілборонову кислоту (32 мг, 0.160 ммоль), і суміш нагрівали при 100°C 90 хвилин. Після охолодження суміш очищали методом флеш-хроматографії, спочатку (від 0% до 5% MeOH у ДХМ) і потім методом преп-ВЕРХ, отримуючи як

мінорний продукт Прикладу 43 білу тверду речовину (7 мг).

LC-MS: $t_R = 4.89$ хв., $M+1 = 463.1$.

- ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.22 (с, 1H), 8.79 (с, 1H), 8.66 (д, $J = 7.9$ Гц, 1H), 8.52 – 8.45 (м, 1H), 8.12 – 8.07 (м, 1H), 8.00 (д, $J = 8.4$ Гц, 1H), 7.76 (т, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.50 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 7.45 – 7.33 (м, 2H), 7.19 (т, $J = 7.7$ Гц, 1H), 6.59 (с, 1H), 4.63 (д, $J = 12.5$ Гц, 1H), 4.35 (дд, $J = 11.1$, 3.3 Гц, 1H), 4.08 (д, $J = 8.7$ Гц, 1H), 4.03 – 3.91 (м, 2H), 3.78 (с, 1H), 3.59 (д, $J = 11.9$ Гц, 1H), 3.26 (с, 3H), 3.14 (с, 1H).

ПРИКЛАД 44



44

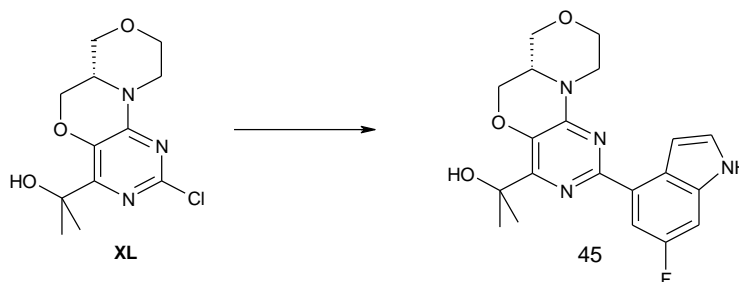
- Приклад 44 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для Прикладу 38, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1, $t_R = 2.92$ хв. MS: 367.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

- ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.24 (с, 1H), 7.97 (д, $J = 6.8$ Гц, 1H), 7.55 – 7.38 (м, 2H), 7.18 (дд, $J = 14.1$, 6.3 Гц, 2H), 5.51 (с, 1H), 4.53 (д, $J = 11.5$ Гц, 1H), 4.42 (дд, $J = 11.0$, 3.3 Гц, 1H), 4.06 (д, $J = 8.0$ Гц, 1H), 3.99 – 3.86 (м, 2H), 3.72 (с, 1H), 3.57 (т, $J = 10.5$ Гц, 1H), 3.30 – 3.03 (м, 2H), 1.52 (с,

6H).

ПРИКЛАД 45

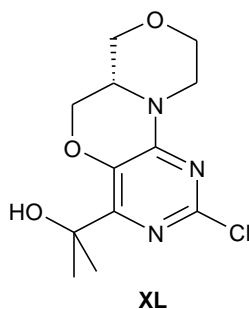


Суміш 4-бром-6-фтор-1H-індолу (36 мг, 0.168 ммоль), біс(пінаcolato)диборону (90 мг, 0.350 ммоль), ацетату калію (41 мг, 0.420 ммоль) і $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (23 мг, 0.028 ммоль) у диоксані (1 мл) нагрівали в герметично закритій пробірці при 100°C 3 години. Після охолодження додавали інтермедіат XL (40 мг, 0.140 ммоль) у диоксані (1 мл), тетракіс(трифенілфосфін) паладій(0) (16 мг, 0.014 ммоль) і Na_2CO_3 2M (0.21 мл). Реакційну суміш нагрівали при 100°C 19 годин. Після охолодження суміш очищали спочатку методом флеш-хроматографії (від 5% до 10% EtOAc у ДХМ) і потім методом преп-ВЕРХ, одержуючи кінцевий продукт Прикладу 45, у вигляді білої твердої речовини (12 мг).

LC-MS1, $t_R = 4.04$ хв. MS: 385.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.30 (с, 1H), 7.79 (д, $J = 11.4$ Гц, 1H), 7.44 (с, 1H), 7.26 (д, $J = 15.4$ Гц, 2H), 5.34 (с, 1H), 4.47 (дд, $J = 27.0, 10.9$ Гц, 2H), 4.05 (д, $J = 8.2$ Гц, 1H), 3.93 (т, $J = 10.1$ Гц, 2H), 3.72 (с, 1H), 3.58 (с, 1H), 3.20 (дд, $J = 24.7, 13.8$ Гц, 3H), 1.52 (с, 7H).

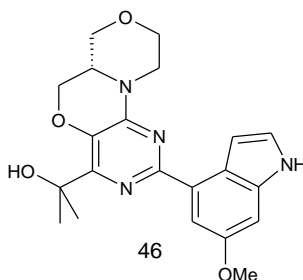
Інтермедіат XL



XL

Інтермедіат XL синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для Інтермедіата XXXIII, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гiдроксиметилморфолін.

ПРИКЛАД 46



46

Приклад 46 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 45, реакцією комбінації за Сузукі інтермедіата XL з 4-бром-6-метокси-1H-індолом у присутності біс(пінаcolato)диборона й паладієвого каталізатора.

LC-MS1, $t_R = 3.38$ хв. MS: 397.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.03 (с, 1H), 7.60 (д, $J = 2.2$ Гц, 1H), 7.29 (с, 1H), 7.10 (с, 1H), 7.02 (с, 1H), 5.44 (с, 1H), 4.59 - 4.35 (м, 2H), 4.07 (с, 1H), 3.92 (т, $J = 9.7$ Гц, 2H), 3.81 (с, 3H), 3.77 - 3.65 (м, 1H), 3.57 (с, 1H), 3.22 (с, 2H), 1.52 (с, 6H).

ПРИКЛАД 47 – Клітинний тест інгібування ATR

Активність ATR обмежується клітинами які реплікуються і багато її мішеней можуть також фосфорилюватися іншими РІКК. Ці обмеження ускладнювали розробку селективних клітинних тестів у минулому. Для подолання зазначених обмежень була використана розроблена раніше клітинна система, у якій ATR, і тільки ATR, можна активувати за бажанням у кожній клітині (Toledo et al Genes Dev. 22, 297–302 2008). У цій системі додавання 4-гiдрокситамоксифену (4-ОНТ) промотивує ядерне переміщення фрагмента TopBP1, який потім активує ATR.

Фосфорилування H2AX, яке іде за додаванням 4-ОНТ у даних клітинах, є прямим й селективним зчитуванням активності ATR, на яке не впливають інші PIKK. Ця система використовувалася в минулому як скринінгова платформа для сполук із потенціалом інгібування ATR (Toledo et al. Nat Struct Mol Biol 2011). На Фіг. 1 проілюстрований процес кількісної оцінки активності ATR за допомогою даної системи, і описане обчислення значення IC₅₀ для чотирьох репрезентативних сполук із розробленої серії (сполуки із Прикладів 1, 2, 3 і 11). Лінія клітин, яка при цьому використовувалася, була клоном лінії клітин рака грудей MCF7, які стійко експресують ATR-активуючий фрагмент TopBP1 (описано в роботі Toledo et al Genes Dev 2008).

Інгібування ATR у живих клітинах сполуками із Прикладів 1, 2, 3 і 11 проілюстроване на Фіг.

1. Нижче описані деталі:

(А) Зображення ілюструє клітинну систему для активації ATR, яка використовувалася в даному тесті, яка була описана в роботі Toledo, L. I., et al. Genes Dev. 22, 297–302 (2008). Коротко, ATR-активуючий фрагмент білка TopBP1 злитий із фрагментом естрогенового рецептора. Отриманий гібридний білок зберігається в цитоплазмі, але переміщується в ядро в присутності 4-гідрокситамоксифену (ОНТ), де активує ATR.

(В) ОНТ-індукована активація в даній системі призводить до загального фосфорилування гістона H2AX (γH2AX), мішені ATR. Важливо, і як описано в роботі Toledo, L.I et al. Genes Dev. 22, 297-302 (2008), формування γH2AX у даній системі строго залежить від ATR, і на нього не впливають інші споріднені кінази, такі як ДНК-ПК або АТМ. Зображення ілюструє тип γH2AX сигналу, який спостерігається в даній системі. TopBP1-ER ретровірусна конструкція несе IRES-GFP репортерну групу для ідентифікації інфікованих клітин. Відзначимо, що кожна інфікована (зелена) клітина відповідає на ОНТ масованим виробленням γH2AX.

(С) Ілюстрація високопродуктивного мікроскопічного скринінга, що використовується для in cellulo оцінки інгібіторів ATR, за роботою Toledo, L. I. et al. Nat. Struct.Mol. Biol. 18, 721–727 (2011). Коротко, клітини, які експресують TopBP1-ER, піддають впливу ОНТ для активації ATR в 96-коміркових планшетах, і потім обробляють для γH2AX імуофлуоресценції. Потім реєструють сигнал за допомогою високопродуктивного мікроскопа Opera (Perkin Elmer), і аналізують сигнал ядерного γH2AX для кожної комірки. Середнє значення сигналу для кожної комірки кодують кольором (чорний = немає сигналу; червоний = максимальний сигнал).

(D) Приклад поведінки в даному аналізі добре відомого інгібітору ATR (кофеїн). Ліворуч дані з комірок із клітинами, які експресують TopBP1-ER, з додаванням або без додавання ОНТ (500 нм). Праворуч – дія кофеїну на клітини, оброблені додаванням 500 нм ОНТ. Як можна бачити, зростаючі концентрації кофеїну, призводять до поступового зменшення середніх значень сигналу ядерного γH2AX на комірку, відповідно до інгібуванням ATR ([кофеїн] = 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 і 5 мМ).

(Е) Дія зростаючих концентрацій сполуки із Прикладу 1 і 2 на ОНТ-індукований γH2AX, обмірюваний як в (D). (Концентрації: 0.0003, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 і 3 мкМ). Показані дуплікати для кожного набору умов.

(F) Необроблені дані, які показують інтенсивність γH2AX на окреме ядро, отримані в експерименті, показаному в (Е), на клітинах, оброблених ОНТ (500 нМ) зростаючими концентраціями сполуки із Прикладу 1. Кожна точка відповідає інтенсивності γH2AX на окреме ядро. Чорні стовпчики показують середнє значення.

(G) Сигмоїдальні криві, що представляють дані, отримані в (Е), були використані для обчислення значень IC₅₀ для кожної сполуки.

(H) Дія зростаючих концентрацій Прикладу 3 і Прикладу 11 на ОНТ-індукований γH2AX, яка визначалася як описано в (D). (Концентрації: 0.0003, 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 і 3 мкМ). Показані дуплікати для кожного набору умов.

(J) Необроблені дані, які показують інтенсивність γH2AX на окреме ядро, отримані в експерименті, показаному в (H), на клітинах, оброблених ОНТ (500 нМ) зростаючими концентраціями сполуки із Прикладу 11. Кожна точка відповідає інтенсивності γH2AX на окреме ядро. Чорні стовпчики показують середнє значення.

(K) Сигмоїдальні криві, які представляють дані, отримані в (H), були використані для обчислення значень IC₅₀ для кожної сполуки

На додачу до описаної вище селективної системи, описані в даному винаході сполуки із Прикладів скринінгували на їхню здатність інгібувати внутрішньоклітинний ATR з використанням імуноблотинга для детектування фосфорилування ATR субстрату CHK1(S345) у клітинах, оброблених гідроксисечовиною. Клітини HT29 висівали з концентрацією 500000 клітин на комірку в 6-коміркових планшетах у середовищі RPMI (Sigma R6504) з додаванням 10% фетальної бичачої сироватки (Sigma F7524), розчину пеніцилін/стрептоміцин у розведенні 1:100 (Gibco 15070-063) і фунгізону (Gibco, 15290-018), і залишали на ніч при 37 °C в атмосфері

- 5% CO₂. Потім додавали в клітинне середовище сполуку з кінцевою концентрацією 10 мкМ в 3-разових серійних розведеннях, і клітини інкубували при 37 °C в атмосфері 5% CO₂. Через 15 хвилин додавали гідроксисечовину (Sigma H8627) до кінцевої концентрації 2.5 мМ. Після 30 хвилин обробки гідроксисечовиною, клітини промивали в PBS, лізували додаванням 50 мкл лізуючого буфера (50 мМ Tris pH 7.5, 150 мМ NaCl, 1% IGEPAL CO-630 (Sigma, Ref. 542334-100G-A), Phospho Stop (Roche, Ref. 04906837001) і Complete Mini EDTA free (Roche, Ref. 11836170001)). Вміст білка в лізатах визначали модифікованим методом Бредфорда (Sigma, Ref. B6916). Білки відокремлювали на SDS–PAGE і переносили на нітроцелюлозну мембрану (VWR International Eurolab, Ref. 732-4007). Мембрани інкубували протягом ночі при 4°C з антитілами, специфічними до загальних CHK1 (Santa Cruz Biotechnology, sc-8404), фосфосерин-345 CHK1 (Cell Signaling Technology #2348), їх промивали, а й потім інкубували з IRDye800 кон'югованими антимішачими (Pierce/Cultek, 35521) і Alexa Fluor 680 козячими антикролячими IgG вторинними антитілами (Invitrogen, A21076). Смуги візуалізували й кількісно оцінювали за допомогою інфрачервоної системи формування зображень Odyssey (Li-Cor Biosciences).
- Відсоток фосфорильованого CHK1 відносно загального CHK1 у клітинах з гідроксисечовиною приймали за 100 відсотків фосфорилування. Відсоток CHK1 фосфорилування фінально відкладали на графіку залежно від концентрації кожної сполуки й обчислювали значення EC₅₀ для внутрішньоклітинного інгібування ATR за допомогою Activitybase від IDBS.
- Біологічна активність сполук в ATR клітинному тесті представлена в наведених нижче таблицях напівкількісними результатами: EC₅₀ >1 мкМ (+), 100нМ < EC₅₀ <1 мкМ (**) або EC₅₀ <100 нМ (***).

Таблиця 1

Приклад	ATR EC ₅₀
1	***
2	***
3	***
4	***
5	**
6	**
7	**
8	***
9	**
10	**
11	***
12	**
13	**
14	**
15	**
16	**
17	***
18	***
19	***
20	**
21	*
22	**
23	**
24	**
25	**
26	*
27	**
28	***
29	***
30	**
31	***
32	*
33	**
34	**

Таблиця 1

Приклад	ATR EC ₅₀
35	*
36	*
37	**
38	**
39	**
40	**
41	**
42	**
43	**
44	**
45	**
46	**
61	**
62	**
63	***
64	**
65	***
66	**
67	***
68	**
69	**
70	**
71	***
72	**
73	*
74	**
75	**
76	*
77	***
78	***
79	**
80	*
81	*
82	**
83	**
86	*
87	*
92	***
93	**
94	*
95	*
96	**
97	**
101	**
102	*
103	**
105	**
106	*
108	**
109	**
110	*
112	**
113	*
114	*

ПРИКЛАД 48 – Клітинний тест інгібування ATR і ATM

ATM і ATR демонструють відповіді на ушкодження ДНК, які перекриваються і відрізняються. Вони повинні працювати спільно, і їхні відповіді повинні бути скоординовані. Обидва шляхи можуть активуватися іонізуючим випромінюванням і Уф-випромінюванням. Оскільки Уф-

випромінювання непрактичне для використання у високопродуктивному клітинному тесті, був обраний Уф-міметик 4NQO (Sigma) для активації шляхів відповіді ATR і ATM на ушкодження ДНК.

Chk1, розташована по ходу транскрипції протеїнкіназа ATR, відіграє ключову роль у контрольній точці ушкодження ДНК, так само як і Chk2, розташована по ходу транскрипції ATM. В активації Chk1 бере участь фосфорилування Ser317 і Ser345 (які розглядаються як краща мішень для фосфорилування/активації за допомогою ATR), і активація Chk2 включає фосфорилування Thr68 (найбільш помітний субстрат для ATM). У даному тесті визначається зменшення фосфорилування Chk1 (Ser 345) і Chk1 (Thr 68) у клітинах аденокарциноми товстого кишківника HT29 після обробки сполукою і Уф-міметиком 4NQO. Сполуку в концентрації 1 мМ одержували розбавленням в 100 %-му ДМСО й потім розбавляли 1:100 у середовищі для проведення тесту (RPMI, 10 % FCS, 1 % глутамін). Клітини висівали в 6-коміркові планшети Costar у концентрації 5×10^5 клітин на мл в 2 мл RPMI, 10 % FCS, 1 % глутаміну, і вирощували протягом 24 годин. Після додавання сполуки, клітини інкубували 60 хвилин. Потім додавали кінцеву концентрацію 3 мкМ 4NQO (приготовлену в 100 %-му ДМСО), і клітини інкубували ще 60 хвилин. Потім клітини лізували, і аналізували pChk1 Ser345 і pCHK2 Thr68 (Cell Signaling Technology, #2661) відносно загального CHK1 і CHK2 (Santa Cruz Biotechnology, sc-5278) відповідно до методів імуноблотинга, як описано вище. Відсоток фосфорильованого CHK1 відносно загального CHK1 або p-CHK2 відносно загального CHK2 у клітинах, оброблених 4NQO, приймали за 100 відсотків фосфорилування. Відсоток CHK1 або CHK2 фосфорилування в підсумку відкладали на графіку відносно концентрації для кожної сполуки, і обчислювали значення EC_{50} для внутрішньоклітинного інгібування ATR за допомогою Activitybase від IDBS.

Селективність деяких сполук до ATR у порівнянні з ATM показана в Таблиці 2.

Таблиця 2

Приклад	Інгібування CHK1P УФ-міметиком при 10 мкМ (%)	Інгібування CHK2P УФ-міметиком при 10 мкМ (%)
1	99	0
2	98	0
3	98	0
5	98	0
8	98	25
10	95	25
ATM інгібітор KU-60019	38	99

ПРИКЛАД 49 – In vitro тест проліферації клітин

In vitro активність сполук визначали в описаному вище тесті проліферації клітин; Celltiter-glo® люмінісцентному аналізі життєздатності клітин, комерційно доступному від Promega Corp., Madison, WI. Цей гомогенний метод аналізу заснований на рекомбінантному експресуванні Coleoptera люциферази (US 5583024; US 5674713; US 5700670) і визначає число життєздатних клітин у культурі на основі кількісного визначення присутньої АТФ, індикатору метаболічно активних клітин (Crouch et al. (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). Celltiterglo® аналіз проводили в 96-коміркових планшетах, що дозволяло провести автоматизований високопродуктивний скринінг (HTS) (Cree et al. (1995) Anticancer Drugs 6:398-404).

Методика гомогенного аналізу включає додавання одного реагенту (Celltiter-glo® Reagent) безпосередньо в клітини, культивовані на сироватковому середовищі. Не потрібні стадії промивання клітин, видалення середовища й численні відмірювання піпеткою. Дана система здатна детектувати усього 15 клітин/комірку в 96-комірковому форматі через 10 хвилин після додавання реагенту й перемішування.

Гомогенний формат "додай-змішай-виміряй" приводить до лізису клітин і генерування люмінісцентного сигналу, пропорційного до кількості присутньої АТФ. Кількість АТФ прямо пропорційна числу клітин, присутніх у культурі. Аналіз Celltiter-glo® генерує "світний" люмінісцентний сигнал, продукований реакцією люциферази, яка має час напівжиття більш п'яти годин, залежно від типу клітин і середовища, які використовуються. Число життєздатних

клітин виражається у відносних люмінесцентних одиницях (RLU). Субстрат, люциферин жуків, окислювально декарбоксилюється рекомбінантною люциферазою світлячка з одночасним перетворенням АТФ в АМФ і генерацією фотонів. Тривалий період напівжиття усуває необхідність використання інжекторів реагенту й дає можливість обробляти велика кількість

планшетів безперервною або перериваним чином. Даний тест проліферації клітин можна використовувати з різними багатокомірковими форматами, наприклад в 96-комірковому або 384-комірковому форматі. Дані можна реєструвати люменометром або системою формування зображення із ПЗС-камерою. Потужність люмінесценції виражена у відносних світлових одиницях (RLU), визначених у часі.

ПРИКЛАД 50 – Аналіз комбінацій

Можна проаналізувати показник адитивності (CI) комбінацій деяких сполук із Прикладів і різних хіміотерапевтичних засобів в *in vitro* тестах проліферації клітин. Показник адитивності обчислюють за методом Chou і Talalay (програма Calcsyn, Biosoft). Силу синергії оцінюють за шкалою оцінок Chou і Talalay: CI нижче 0.8 означає синергію, CI між 0.8 і 1.2 означає адитивність, і CI вище 1.2 означає антагонізм.

Обчислюють також значення EC_{50} для репрезентативних комбінацій. Порівнюють виміряні окремо значення EC_{50} для хіміотерапевтичного засобу й прикладів сполук зі значенням EC_{50} для комбінації. Клітинні лінії відносяться до пухлинного типу. Аналізи комбінацій проводять як описано в роботі "Pim 1 kinase inhibitor ETP-45299 suppresses cellular proliferation and synergizes with PI3K inhibition". Blanco-Aparicio, et al. Cancer Lett. 2011, 300(2), 145-153.

ПРИКЛАД 51 – аналіз активності PI3K

Активність кінази вимірювали з використанням придбаної тест-системи ADP Hunter™ Plus, доступної від Discoverx (#33-016), яка є гомогенним аналізом для вимірювання накопичення АДФ, універсального продукту кіназної активності. Фермент, PI3K (p110 α /p85 α) отримували в Cerna Biosciences (#07CBS-0402A). Аналіз проводили відповідно до рекомендацій виробника з невеликими змінами, які в основному стосуються того, що кіназний буфер заміняли на 50 mM HEPES, pH 7.5, 3 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 1 mM EGTA, 0.04 % CHAPS, 2 mM TCEP і 0.01 мг/мл BGG. PI3K аналізували в ході титраційного експерименту з визначенням оптимальної концентрації білка для аналізу інгібування. Щоб обчислити значення IC_{50} для тестованих сполук, серійні 1:5 розведення сполук додавали до ферменту у фіксованій концентрації (2.5 мкг/мл). Фермент преінкубували з інгібітором і 30 мкМ PIP2 субстратом (P9763, Sigma) протягом 5 хвилин і потім додавали АТФ до кінцевої концентрації 50 мкМ. Реакційну суміш витримували 1 годину при 25 °C. Послідовно додавали в комірки реагенти А і В, і планшети інкубували 30 хвилин при 37 °C. Показники флуоресценції вимірювали на приладі Victor (Perkin Elmer) з рекомендованими налаштуваннями (544 і 580 нм як довжина хвилі зрушення й випускання, відповідно). Значення нормалізували відносно активності контрольного зразка, включеного для кожного ферменту (тобто 100 %-на активність PI3 кінази, без додавання сполуки). Отримані значення відклали на графіку відносно концентрації інгібітору й будували сигмоїдну криву залежності відповіді від дози із застосуванням модельного сигмоїдального інструмента Four-Parameter Logistic для програми Activity base.

ПРИКЛАД 52 – Тест активності mTOR

Ферментну активність mTOR вимірювали з використанням тесту активності кінази Lanthascreen™ (Invitrogen). Фермент отримували в Invitrogen (PV4754), так само як і GFP-мічений субстрат (4EBP1-GFP; PV4759) і Tb-antip4EBP1(pthr46) антитіло (PV4757). Аналіз проводили в 50 mM HEPES буфері, pH 7.5, який містить 1.5 mM MnCl₂, 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 2.5 mM DTT і 0.01 % Tween-20. Концентрації компонентів у тесті були наступними: 0.24 нм mTOR кінази, 400 нм 4EBP1-GFP, 10 мМ АТФ і серійні розведення досліджуваної сполуки (інгібітору). Після 1 години інкубування за кімнатної температури, використовували 20 мМ ЕДТА для зупинки реакції, і додавали тербій-мічене антитіло (4 нМ) для детектування фосфорильованого продукту. Антитіло дає асоціат з фосфорильованим продуктом, що приводить до збільшення значення TR-FRET. Значення TR-FRET (безрозмірна величина) обчислювали як співвідношення сигналу акцептора (GFP, випускання при 520 нм) до сигналу донора (тербій, випускання при 495 нм). Отримані значення відклали на графіку відносно концентрації інгібітору й будували сигмоїдну криву залежності відповіді від дози із застосуванням модельного сигмоїдального інструмента Four-Parameter Logistic для програми Activity base

ПРИКЛАД 53 – Аналіз активності DNAPK

Активність даної кінази вимірювали з використанням тесту активності кінази ADP Hunter™ Plus, комерційно доступного від Discoverx (#90-0083), який є гомогенним аналізом для вимірювання накопичення АДФ, універсального продукту кіназної активності. Фермент, ДНК-РК

придбали в Promega (#V5811). Аналіз проводили відповідно до рекомендацій виробника з невеликими змінами. Головним чином, кіназний буфер заміняли на 15 мМ HEPES, pH 7.5, 10 мМ MgCl₂, 20 мМ NaCl, 1 мМ EGTA, 0.1 мг/мл BGG, 0.02 % Tween 20. ДНК-РК аналізували в ході титраційного експерименту з визначенням оптимальної концентрації білка для аналізу інгібування. Щоб обчислити значення IC₅₀ для тестованих сполук, серійні 1:3 розведення сполук додавали до ферменту у фіксованій концентрації (2 Од/мкл). Фермент преінкубували з інгібітором і 200 мкМ ДНК субстратом, і потім додавали АТФ до кінцевої концентрації 75 мкМ. Реакційну суміш витримували 1 годину при 37 °С. Послідовно додавали в комірки реагенти А і В, і планшети інкубували 30 хвилин за кімнатної температури. Показники флуоресценції вимірювали на приладі Envision (Perkin Elmer) з рекомендованими налаштуваннями (550 і 590 нм як довжина хвилі зрушення й випускання, відповідно). Значення нормалізували відносно активності контрольного зразка, включеного для кожного ферменту (тобто, 100 %-на активність ДНК РК кінази, без додавання сполуки). Отримані значення відкладали на графіку відносно концентрації інгібітору й будували сигмоїдну криву залежності відповіді від дозування із застосуванням модельного сигмоїдального інструмента Four-Parameter Logistic для програми Activity base.

ПРИКЛАД 54 – Інгібування фосфорилування АКТ (метод ELISA)

Інгібування фосфорилування АКТ (метод ELISA) можна використовувати як показник активності PI3K і mTOR у клітинах. Активність вимірюють як ендogenous концентрації фосфо-Akt1 (Ser473) білка. Клітини остеосаркоми U2OS висівали в 96-комірковій мікропланшеті з полі-d-лізиновим покриттям (18000 клітин/комірка). Після обробки серійними розведеннями досліджуваних сполук протягом 3 годин, клітини фіксували безпосередньо в комірках 4 %-ним параформальдегідом.

Після фіксування, окремі гнізда проходили через ту ж серію стадій, яка застосовується у звичайному імуноблоті: включаючи блокування 5 %-ним BSA, інкубування з 1/1000 первинного антитіла-АКТ (Ser 74) в PBS, яке містить 5 % BSA при 4°C, протягом ночі (Cell Signalling), промивання й інкубування із другим антитілом HRP-антимішачий IgG 1 годину за кімнатної температури (Amersham). Після додавання Supersignal ELISA Femto максимально чутливого хемілюмінісцентного субстрату (Pierce), результати зчитували за допомогою люмінісцентного планшет-рідера (Victor). Обчислювали значення EC₅₀ для протестованих сполук.

Біологічну активність деяких сполук у біохімічному тесті з PI3K α , mTOR і DNAPK показано в Таблиці 3.

Таблиця 3

Приклад	PI3K α IC ₅₀ (мкМ)	mTOR IC ₅₀ (мкМ)	DNAPK IC ₅₀ (мкМ)
1	1.7	0.146	17.3
2	13.3	2.72	25.00
3	4.9	1.86	25.00
4	2.4	0.274	10.00
5	14.9	0.194	25.00
6	4.5	0.558	4.52
7	6.6	1.62	10.00
8	2.8	0.588	1.96
9	2.0	3.27	25.00
10	11.5	10.00	10.00
11	1.9	0.604	1.51
12	50.0	10.00	10.00
13	21.0	10.00	10.00
14	7.9	2.19	10.00
15	1.1	0.851	2.86
16	0.67	0.852	2.82
17	6.0	2.62	10.00
18	8.5	10.00	10.00
19	5.0	1.76	10.00
20	10.3	1.82	25.00
21	0.4	5.58	4.15

Таблиця 3

Приклад	PI3K α IC ₅₀ (мкМ)	mTOR IC ₅₀ (мкМ)	DNAPK IC ₅₀ (мкМ)
22	50.0	10.00	25.00
23	50.0	10.00	6.37
24	19.3	1.67	10.00
25	23.4	0.582	10.00
26	2.7	10.00	10.00
27	2.5	0.55	25.00
28	4.7	0.785	25.00
29	3.8	0.435	25.00
30	2.5	4.68	25.00
31	6.5	0.586	1.88
32	50.0	3.09	10.00
33	>10	1.93	25.00
34	23.3	0.808	25.00
35	6.95	2.35	10.00
36	12.5	10.00	25.00
37	16.9	4.4	25.00
38	2.39	0.275	7.21
39	2.17	1.24	3.18
40	1.67	0.279	10.00
41	6.9	0.381	10.00
42	6.55	0.412	10.00
43	10.6	>10	5.04
44	1.18	0.044	3.06
45	2.27	0.053	0.886
46	0.48	0.038	2.82
61	3.22	0.228	10.00
62	16.2	6.6	10.00
63	6.61	0.252	4.3
64	2.65	0.505	0.196
65	6.25	0.921	6.65
66	7.17	0.854	2.41
67	3.16	0.151	10.00
68	7.38	2.08	10.00
69	1.98	0.336	4.93
70	0.87	0.226	0.741
71	1.08	0.0993	10.00
72	0.82	0.0453	1.6
73	50.0	10.00	10.00
74	2.24	0.152	0.989
75	2.52	0.093	1.83
76	50.0	10.00	10.00
77	5.36	>10	10.00
78	4.49	0.047	
79	28.6	10.00	10.00
80	13.1	0.501	10.00
81	50.0	5.55	10.00
82	5.6	1.59	10.00
83	12.2	2.47	3.11
86	50.0	3.41	10.00
87	50.0	10.00	0.21
92	2.75	1.24	6.15
93	7.44	0.117	10.00
94	50.0	4.48	10.00
95	50.0	10.00	10.00
96	50.00	6.08	10.00

Таблиця 3

Приклад	PI3Kα IC ₅₀ (мкМ)	mTOR IC ₅₀ (мкМ)	DNAPK IC ₅₀ (мкМ)
97	50.0	6.8	6.8
101	12.6	0.227	10.00
102	50.0	1.82	0.10
103	3.16	0.058	10.00
105	28.9	1.99	10.00
106	50.0	10.00	1.16
108	15.4	0.579	1.75
109	5.69	0.224	10.00
110	50.0	10.00	10.00
112	19.5	0.235	10.00
114	50.00	10.00	10.00

ПРИКЛАД 55 – Оцінка здатності сполук генерувати одноланцюгові ДНК.

Головною функцією ATR у клітинах є пригнічення RS (Lopez-Contreras, A. J. & Fernandez-Capetillo, O. DNA Repair (Amst.) 9, 1249–1255 (2010)). На молекулярному рівні, RS визначають як накопичення більших фрагментів одноланцюгової ДНК. У клітинах ssДНК швидко покривається реплікативним білком A (RPA). Тому концентрацію хроматин-зв'язаного RPA можна використовувати як сурогатний маркер ssДНК (Toledo, L. I. et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 18, 721–727 (2011); Lopez-Contreras, A. J. et al. Journal of Experimental Medicine (2012). doi:10.1084/jem.20112147).

Вплив сполук із Прикладів 1, 2, 3 і 11 на концентрацію хроматин-зв'язаного RPA показаний на Фіг. 2(A) і 2(B). Деталі описані нижче:

(A) На Фіг. 2(A) показаний вплив Прикладу 1 і Прикладу 2 (1 мкМ) на концентрацію хроматин-зв'язаного RPA. Сполуку використовували окремо або в комбінації з HU, інгібітором рибонуклеотид редуктази, який розщеплює дНТФ пул і є відомим індуктором реплікативного стресу. Хроматин-зв'язаний RPA кількісно оцінювали методом високопродуктивної мікроскопії, як описано вище. Відповідно до інгібуванням ATR, зазначені три сполуки можуть підвищувати концентрацію хроматин-зв'язаного RPA, і ця дія значно підсилюється в присутності HU.

(B) На Фіг. 2(B) показаний вплив Прикладу 3 і Прикладу 11 (1 мкМ) на збільшення концентрації хроматин-зв'язаного RPA. Цю дію кількісно оцінювали методом високопродуктивної мікроскопії, як описано вище. Відповідно до інгібуванням ATR, зазначені дві сполуки можуть підвищувати концентрацію хроматин-зв'язаного RPA.

ПРИКЛАД 56 – Оцінка активності в запобіганні колапсу зупинених реплікативних вилок

Однією з найбільш відомих функцій ATR є запобігання двонитковим розривам (DSB) ДНК у зупинених реплікативних вилок (Lopez-Contreras, A. J. & Fernandez-Capetillo, O. DNA Repair (Amst.) 9, 1249–1255 (2010)). Для тестування цієї активності, проводили два аналізи (A, B). Обидва тести показують, що сполуки із Прикладу 1, Прикладу 2, Прикладу 3 і Прикладу 11 здатні активно промотивувати розрив HU-зупинених реплікативних вилок, що відповідає їх ATR-інгібуючій здатності.

а. У першому аналізі, людські клітини U2OS піддавали (або не піддавали) впливу 2 мМ HU для розвитку зупинки реплікативних вилок. Потім клітини поміщали в середовище, яке містить 1 мкМ сполук із Прикладу 1 і Прикладу 2 на 16 годин і аналізували вміст ДНК методом потокової цитометрії, вимірюючи інтенсивність флуоресценції пропідію йодида. Контрольні клітини обробляли таким же об'ємом ДМСО.

Результати показані на Фіг. 3(A) для сполук із Прикладів 1 і 2. Генерування ДНК-розривів у реплікативних вилок активувало наступну контрольну точку клітинного циклу – G2, приводячи до зупинки клітинного циклу й накопичення клітин, які перебувають у фазі G2. Відповідно до цього, сполуки із Прикладу 1 і Прикладу 2 приводили до накопичення клітин, які перебувають у фазі G2, і цей ефект значно підсилювався при попередньому впливі HU.

Результати показані на Фіг. 3(B) для сполук із Прикладів 3 і 11. Інтенсивне генерування ДНК-розривів у клітинах які реплікуються перешкоджало проходженню клітин через фазу S, приводячи до накопичення клітин, які перебувають на даній фазі клітинного циклу. Відповідно до цього, обидві сполуки приводили до накопичення клітин, які перебувають у фазі S.

б. Генерування розривів дволанцюгової ДНК, що є наслідком колапсу реплікативних вилок, також оцінювали кількісно за формуванням ядерних вогнищ ДНК-репаруючого білка 53BP1. Таку оцінку інгібування ATR проводили способами, описаними в літературі (Toledo et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 2011). На Фіг. 4(A) показане число вогнищ 53BP1, присутніх у клітинах,

оброблених інгібіторами ATR (для Прикладів 1 і 2) з додаванням або без додавання HU, як в а. Як можна бачити на Фіг. 4(A), присутність 1 мкМ сполуки із Прикладу 1 або Прикладу 2 призводило до інтенсивного утворення вогнищ 53BP1 у клітинах, оброблених HU (2 мМ).

На Фіг. 4(B) показане число вогнищ 53BP1, присутніх у клітинах, оброблених інгібіторами ATR (для Прикладів 3 і 11). Як видно по зображеннях для клітин, оброблених як в а, присутність 1 мкМ сполуки із Прикладу 3 або Прикладу 11 приводило до інтенсивного утворення вогнищ 53BP1. Відповідно до їх ATR-інгібуючої здатності, обидва аналізи показують, що сполуки 3 і 11 можуть активно сприяти зупинці й розриву реплікативних вилок.

ПРИКЛАД 57 – Аналіз зв'язування з hERG

Ген hERG кодує білок іонних каналів серця. Вони беруть участь у координуванні серцебиття завдяки своїй здатності проводити електричний струм. Взаємодія з hERG каналами може викликати подовження інтервалу QT. Таке подовження може приводити до шлуночкової аритмії. Тому сполуки запропоновані даним винаходом були протестовані описаним далі методом.

Тестовий набір Predictor hERG отримували в Invitrogen (Carlsbad, CA). Аналіз зв'язування проводили відповідно до інструкцій до набору. Вимірювання флуоресцентної поляризації здійснювали з використанням планшет-рідера Envision від Perkin-Elmer Instruments. Значення поляризації обчислювали автоматично з використанням програми Activity base. Опис тесту опублікований у роботі Piper, et al. Assay & Drug Dev. Tech. 6, 213 (2008).

Значення IC₅₀ (у мікромолях) для деяких сполук наведено в Таблиці 4:

Таблиця 4

Сполука	hERG IC ₅₀ (мМ)
Ін. 3	6
Ін. 11	4

ПРИКЛАД 58 – Аналіз інгібування CYP

Цитохроми P450 (CYP450) є надродиною ферментів, які каталізують окисний метаболізм широкого набору гідрофобних хімічних речовин, включаючи більшість лікарських засобів, що застосовуються в терапії. В аналізі P450-Glo з використанням люциферази (Promega, V9770, V9790, V9880, V9890, V9770) застосовують люменогенні CYP450 маркерні субстрати (Люциферин-IPA, Люциферин-ME, Люциферин-H, Люциферин-BE, Люциферин-ME EGE, Люциферин-H EGE і Люциферин-PPXE), які є похідними люциферина жуки, субстрату для ферментів люцифераз. Зазначені похідні не є субстратами для люциферази, але перетворюються при впливі P450 у люциферин, який у свою чергу реагує з люциферазою, виробляючи кількість світла, прямо пропорційну активності P450. У даному аналізі заміряється дозозалежне інгібування CYP досліджуваною сполукою, у порівнянні з рекомбінантними ферментами CYP, які експресовані в клітинах комах. CYP реакцію проводять шляхом інкубування люміногенного CYP субстрату з ферментом CYP і системою регенерації НАДФН, після чого додають проявляючий реагент відновленого люциферину. Цей реагент одночасно зупиняє CYP реакцію й ініціює люмінесцентний сигнал у вигляді світіння, з періодом напівжиття більше 4 годин. Люциферазна реакція світіння дає стійкий сигнал, який знімає потребу детектування люмінесценції у чітких часових межах.

Тестували п'ять CYP ізоформ (0.5 пкмоль), а саме 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 і 3A4 (кожну ізоформу тестували в окремому аналітичному планшеті). Кожний аналітичний планшет містив кілька сполук в 2 концентраціях (10 мкМ і 1 мкМ), у двох повторях для кожної концентрації, або невелике число сполук на планшет для аналізу залежності відповіді від дозування, у двох повторях (50, 16.5, 5.4, 1.8, 0.6, 0.2, 0.066, 0.022, 0.007 мкМ). Крім того, кожний аналітичний планшет містив 8 різних концентрацій ізоформ-специфічного інгібітору (фурафілін, сульфafenазол, N-3-бензилнірванол, хинідин і кетоконазол як інгібітори для CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 і 3A4, відповідно), у двох повторях для кожної концентрації. Досліджувані сполуки й референсні інгібітори тестували у кінцевих ДМСО концентраціях 0.5 %. Аналітичний планшет включав також 8 повторів контролю-носія, який містить 0.5 % ДМСО/H₂O. Мембрани, які містять CYPs, досліджувану сполуку й субстрат пре-інкубували 10 хвилин при 37 °C за відсутності НАДФН, потім додавали НАДФН та інкубували 60 хвилин при 37 °C, зупиняли реакцію додаванням люциферин-детектуючого реагенту. Через 20 хвилин інкубування при 37 °C, аналітичний планшет зчитували на рідері Envision 2104. Отримані значення нормалізували відносно активності контрольного зразка, включеного для кожного CYP. Отримані значення відкладали на графіку відносно концентрації інгібітору й будували сигмоїдну криву залежності відповіді від дозування із застосуванням модельного сигмоїдального інструмента Four-

Parameter Logistic для програми Activity base.

Зміна CYP3A4 інгібування у часі

Мікросоми печінки людини (0.1 мг/мл) і досліджувану сполуку (0.01, 0.1, 0.4, 1, 4, 10, 50 мкМ, кінцева концентрація ДМСО 0.2 %) або ДМСО або пре-інкубували 30 хвилин за відсутності або в присутності НАДФН, або пре-інкубування тривало 0 хвилин. Потім додавали в інкубовані зразки мідазолам (2.5 мкМ). Через 5 хвилин додавали метанол із внутрішніми стандартами. Зразки аналізували методом LC/MS/MS для моніторингу формування 1'-гідроксимідазоламу. Визначали значення IC₅₀.

Значення IC₅₀ (у мікромолях) для п'яти CYP ізоформ показані для деяких сполук у Таблиці 5.

Таблиця 5

Сполука	P450-1A2	P450-2C19	P450-2C9	P450-2D6	P450-3A4
Ін. 3	>50	>50	>50	>50	>50
Ін. 11	>50	>50	34	>50	39

ПРИКЛАД 59 – Фармакокінетика

Для визначення напрямку перетворень отриманих сполук *in vivo*, проводили фармакокінетичні дослідження на самках мишей BALB-c 10-тижневого віку. Сполуку розчиняли в обраних носіях у концентраціях, обчислених для введення обраного дозування в 0.1 мл. Сполуку вводили тваринам внутрішньовенно й перорально (примусове харчування) і виводили з експерименту через різні проміжки часу (n=3 у кожний момент часу). Точки часу становили 0.08, 0.25, 0.5, 1, 4 і 8 годин для внутрішньовенного введення, і 0.08, 0.16, 0.25, 0.5, 1, 4, 8 і 24 години для внутрішньовенного введення. Відбирали зразки крові й відокремлювали плазму, яку аналізували й кількісно оцінювали методом тандемної мас-спектрометрії/ рідинної хроматографії. Фармакокінетичні параметри визначали, будуючи за експериментальним даними камерну модель із використанням програми Winnonlin для фармакокінетичного аналізу. Оцінюваними параметрами були наступні: площа під кривою (AUC); час напівжиття продукту в плазмі (t_{1/2}); плазмовий кліренс (Cl); об'єм розподілу (Vd); MRT (середній час утримання); біодоступність (F%); максимальна концентрація в плазмі крові після перорального введення (C_{макс}); час настання C_{макс} (T_{макс}).

На Фіг. 5 показані фармакокінетичні параметри й профіль для мишей Balbс після внутрішньовенного (1 мг/кг) і перорального (10 мг/кг) уведення Прикладу 11 у вигляді препарату в суміші 10 % N-метил-2-піролідону, 50 % поліетиленгліколю 300 і 40 % фізіологічного розчину. У кожен момент часу виводили з експерименту 3 миші.

На Фіг. 6 показані фармакокінетичні параметри й профіль для мишей Balbс після внутрішньовенного й перорального введення Прикладу 3 у вигляді препарату в суміші 10 % N-метил-2-піролідону, 50 % поліетиленгліколю 300 і 40 % фізіологічного розчину. У кожен момент часу виводили з експерименту 3 миші.

ПРИКЛАД 60 – Оцінка ефективності *in vivo*

Ефективність сполук запропонованих даним винаходом окремо або в комбінації з хіміотерапевтичними засобами вимірювали *in vivo* шляхом імплантування алотрансплантантів або ксенотрансплантантів ракових клітин гризунам і введення тваринам з пухлинами досліджуваних сполук окремо або в комбінації з хіміотерапевтичними сполуками. Були отримані результати, які відрізняються між собою і залежать, серед іншого, від лінії клітин, наявності або відсутності реплікативного стресу або певних мутацій до пухлинних клітин, послідовності введення сполуки й хіміотерапевтичного засобу, а також від режиму дозування.

На Фіг. 7 показаний об'єм пухлини через 33 дні в групі C57BL/6 мишей віку 8-10 тижнів, яким внутрішньовенно вводили клітини Ермус лімфоми. У мишей-реципієнтів моніторили формування пухлини в присутності пухлинних клітин у крові (LDH вимірювання), і двічі на тиждень пальпацією передлопаточних і шийних лімфовузлів, один раз у тиждень ультразвуковим дослідженням розміру грудних лімфовузлів. Мишей групували (8 мишей на групу) і вводили перорально носій (10 % N-метил-2-піролідон, 90 % поліетиленгліколь 300) і 25 і 50 мг/кг Прикладу 11, розведеного в такому ж носії, один раз на день, протягом 2 днів на першому тижні й 5 днів на другому й третьому тижні. Ефективність лікування оцінювали за відносною вагою всіх пухлинних тканин (селезінка, слинні лімфовузли, маммарні лімфовузли, виличкові й кишкові лімфовузли) відносно ваги тіла, мінус відносна вага аналогічних нормальних тканин. Стопчики показують відносну похибку вимірювання (n=8).

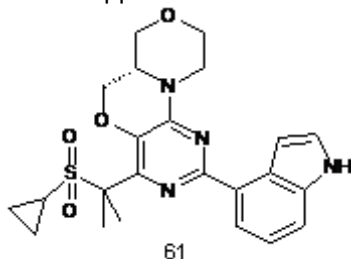
Уведення засобів проводили в День 12 після введення пухлинних клітин, коли всі миші продемонстрували ріст значень LDH у крові в порівнянні з мишами, яким уведення не

проводилося. У порівнянні з контролем, якому вводили тільки носій, дозування Прикладу 11 викликали уповільнення росту пухлини, і уповільнення збільшувалося при збільшенні дозувань. При найнижчому дозуванні 25 мг/кг спостерігалось інгібування росту пухлини (TGI) на 53 % у день 33, у порівнянні з носієм, а при найвищому дозуванні 50 мг/кг спостерігалось TGI, рівне 74 %.

На Фіг. 8 показаний об'єм пухлин через 22 дні в групі мишей C57BL/6 віком 8-10 тижнів, яким внутрішньовенно вводили клітини Ермус лімфоми й перорально вводили один раз на день (2 дні на тиждень у перший тиждень, 5 днів на тиждень у другий тиждень і 2 дні на тиждень у третій тиждень) протягом 13 днів, починаючи від дня 0: носій (10 % N-метил-2-піролідон, 90 % поліетиленгліколь 300) і 25 мг/кг Прикладу 3 у тому ж носії (7 мишей у групі).

Уведення засобів проводили в День 10 після введення пухлинних клітин, коли всі миші продемонстрували ріст значень LDH у крові в порівнянні з мишами, яким введення не проводилося. У порівнянні з контролем, якому вводили тільки носій, дозування Прикладу 3 викликали уповільнення росту пухлини. При дозуванні 25 мг/кг спостерігалось TGI на 46 % у день 23, у порівнянні з носієм.

ПРИКЛАД 61

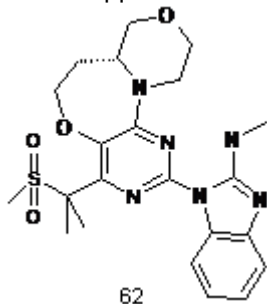


Приклад 61 синтезували за тією ж схемою синтезу, яка використовувалася для Прикладу 4, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

LC-MS1: t_R =5.26 хв., MS: 455.2 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.20 (с, 1H), 7.98 (д, J=7.4 Гц, 1H), 7.52 – 7.39 (м, 2H), 7.34 (с, 1H), 7.16 (т, J=7.7 Гц, 1H), 4.59 (д, J=13.0 Гц, 1H), 4.39 (дд, J=10.9, 3.2 Гц, 1H), 4.13 – 4.00 (м, 1H), 3.99 – 3.81 (м, 2H), 3.74 (т, J=9.4 Гц, 1H), 3.56 (т, J=10.6 Гц, 1H), 3.19 – 3.12 (м, 2H), 2.72 – 2.67 (м, 1H), 1.92 (д, J=3.7 Гц, 6H), 1.01 – 0.77 (м, 4H).

ПРИКЛАД 62

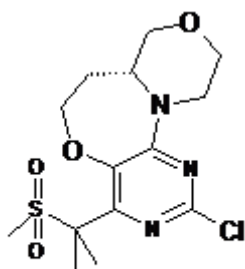


Приклад 62 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для Прикладу 31, але використовуючи інтермедіат XLI з N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

LC-MS1: t_R =2.92 хв., MS: 473.3 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.19-8.14 (кВ, J=4.7 Гц, 1H), 8.01 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.25 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.07 (тд, J=7.6, 1.0 Гц, 1H), 6.97 (тд, J=7.8, 1.1 Гц, 1H), 4.33 – 4.20 (м, 2H), 4.08 – 3.90 (м, 3H), 3.86-3.75 (м, 2H), 3.60 (ддд, J=12.5, 9.1, 3.4 Гц, 1H), 3.47 (дд, J=11.5, 7.9 Гц, 1H), 3.01 (с, 3H), 3.01 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.21 – 2.09 (м, 1H), 2.05 – 1.96 (м, 1H), 1.85 (с, 3H), 1.84 (с, 3H).

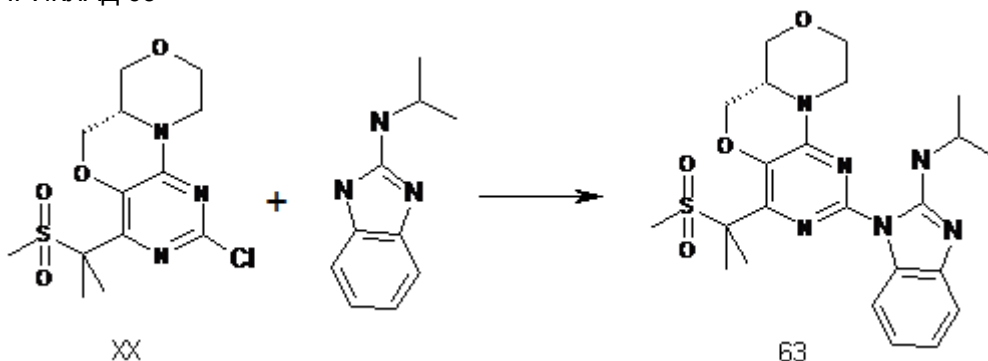
Інтермедіат XLI



XLI

Інтермедіат XLI синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для інтермедіата 2-VII, алкілюванням хірального інтермедіата 2-II йодметаном у присутності трет-бутоксиду.

5 ПРИКЛАД 63



XX

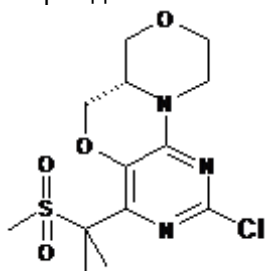
63

У суміш інтермедіата XX (70 мг, 0.2 ммоль) в ацетонітрилі (1.0 мл) додавали (1H-бензоімідазол-2-іл)-ізопропіламін (65 мг, 0.4 ммоль) і Cs₂CO₃ (200 мг, 0.6 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 120°C у пробірці для проведення реакцій під тиском протягом 6 днів. Суміш охолоджували до кімнатної температури й видаляли розчинник у вакуумі. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 50 % до 100 % EtOAc). Цільовий продукт одержували у вигляді білої твердої речовини, і розтирали його в діетиловому ефірі. Нерозчинний твердий осад відфільтровували й сушили у вакуумі (33 мг, 33 %).

LC-MS1: t_R=3.34 хв., MS: 487.2 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.91 (д, J=7.9 Гц, 2H), 7.17 (д, J=7.7 Гц, 1H), 6.99 (т, J=7.5 Гц, 1H), 6.90 (дд, J=11.1, 4.2 Гц, 1H), 4.40 – 4.23 (м, 2H), 4.17 – 3.71 (м, 5H), 3.50 (т, J=11.7 Гц, 1H), 3.18 (дд, J=19.4, 8.6 Гц, 2H), 2.94 (с, 3H), 1.78 (с, 3H), 1.76 (с, 3H), 1.20 (д, J=6.4 Гц, 6H).

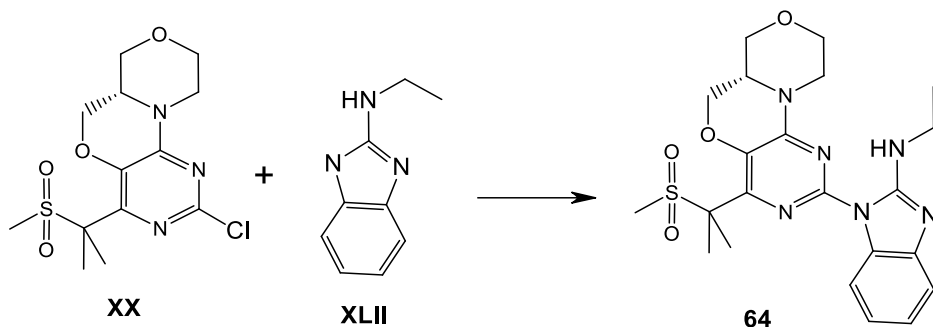
Інтермедіат XX



XX

Інтермедіат XX синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для інтермедіата X, але застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

ПРИКЛАД 64

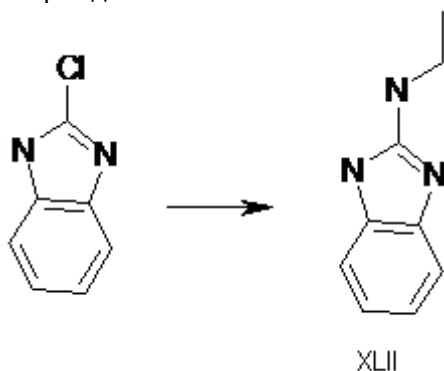


У суміш інтермедіата XX (80 мг, 0.2 ммоль) в ацетонітрилі (1.0 мл) додавали інтермедіат XLII (75 мг, 0.4) і Cs_2CO_3 (225 мг, 0.7 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 120°C у пробірці для проведення реакцій під тиском 3 дні. Суміш охолоджували до кімнатної температури й розбавляли водою й EtOAc. Шари розділяли, і органічну фазу промивали двічі насиченим розчином NaHCO_3 , один раз насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25 % до 100 % EtOAc), і очищали ще раз методом напівпрепаративної ВЕРХ. Цільовий продукт одержували у вигляді білої твердої речовини.

LC-MS1: $t_R=3.19$ хв., MS: 473.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

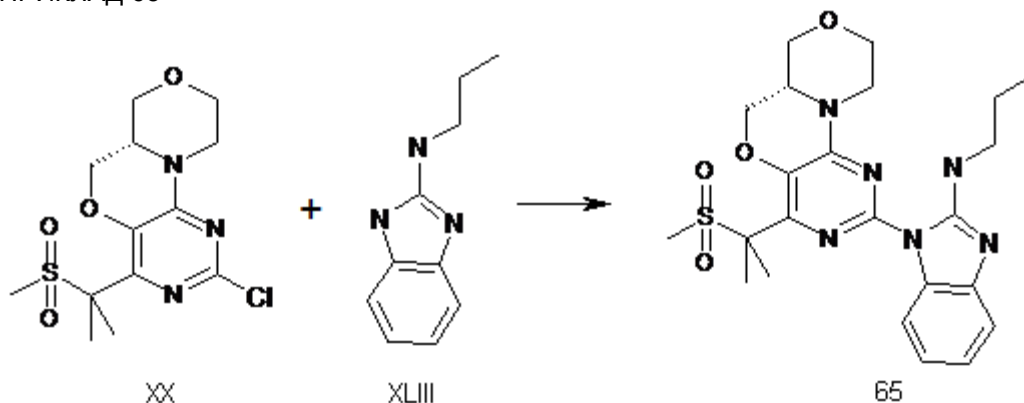
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 8.09 (т, $J=4.1$ Гц, 1H), 7.93 (д, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.17 (д, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.00 (т, $J=7.7$ Гц, 1H), 6.90 (т, $J=7.6$ Гц, 1H), 4.43 – 4.25 (м, 2H), 4.00 (дд, $J=11.7, 3.6$ Гц, 1H), 3.95 – 3.70 (м, 3H), 3.58 – 3.32 (м, 3H), 3.22 – 3.08 (м, 2H), 2.96 (с, 3H), 2.02 – 1.84 (м, 1H), 1.77 (с, 3H), 1.75 (с, 3H), 1.17 (т, $J=7.1$ Гц, 3H).

Інтермедіат XLII



Суміш 2-хлорбензімідазолу (150 мг, 0.9 ммоль) і 70 %-ного водного розчину етиламіна (0.4 мл) в ACN (0.5 мл) нагрівали в мікрохвильовій печі 45 хв. при 160°C (Biotage, Abs. Level VH). Видаляли розчинники у вакуумі. Отриманий сирий продукт суспендували в суміші розчинників 1:1 $\text{CHCl}_3/\text{iPrOH}$. Об'єднані органічні екстракти сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі, одержуючи прозору олію (75 мг; 65 %).

ПРИКЛАД 65



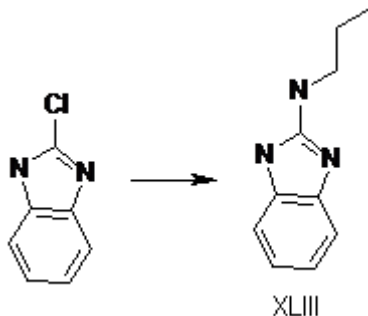
У суміш інтермедіата XX (75 мг, 0.2 ммоль) і ацетонітрилу (2.0 мл) додавали інтермедіат XLIII (76 мг, 0.4) і Cs_2CO_3 (210 мг, 0.6 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 115°C у пробірці для проведення реакцій під тиском 3 дні. Суміш охолоджували до кімнатної температури й розбавляли водою й EtOAc. Шари розділяли й органічну фазу промивали двічі насиченим

розчином NaHCO_3 , один раз насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували. Залишок очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25 % до 100 % EtOAc), і очищали ще раз методом напівпрепаративної ВЕРХ. Цільовий продукт одержували у вигляді білої твердої речовини.

LC-MS1: $t_R=3.32$ хв., MS: 487.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

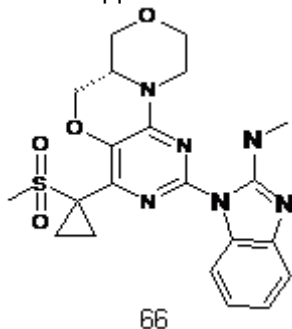
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 8.12 (т, $J=5.7$ Гц, 1H), 7.93 (д, $J=7.7$ Гц, 1H), 7.17 (д, $J=7.6$ Гц, 1H), 6.99 (т, $J=7.5$ Гц, 1H), 6.89 (т, $J=7.6$ Гц, 1H), 4.42 – 4.21 (м, 2H), 3.99 (д, $J=11.5$ Гц, 1H), 3.96 – 3.69 (м, 3H), 3.50 (т, $J=10.6$ Гц, 1H), 3.38-3.31 (м, 2H), 3.20 – 3.13 (м, 2H), 2.95 (с, 3H), 1.77 (с, 3H), 1.75 (с, 3H), 1.59 (дд, $J=14.5, 7.3$ Гц, 2H), 0.87 (т, $J=7.4$ Гц, 3H).

Інтермедіат XLIII



Суміш 2-хлорбензімідазола (100 мг, 0.6 ммоль) і пропіламіну (0.3 мл, 3.2 ммоль) в ацетонітрилі (0.4 мл) нагрівали в мікрохвильовій печі 50 хв. при 160°C (Biotage, Abs. Level VH). Видаляли розчинники у вакуумі, отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolutes Si 5 г), елюючи сумішшю розчинників MeOH/ДХМ (від 0 % до 5 % MeOH). Цільовий кінцевий продукт одержували у вигляді безбарвного олії (90 мг; 78 %).

ПРИКЛАД 66

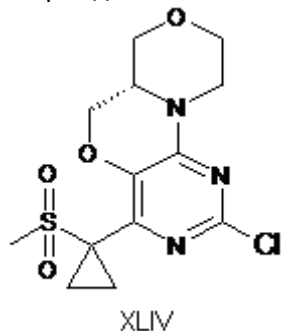


Приклад 66 синтезували за методикою, аналогічною до описаної для Прикладу 8, з інтермедіатом XLIV в ацетонітрилі як розчинником.

LC-MS1: $t_R=3.00$ хв., MS: 457.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

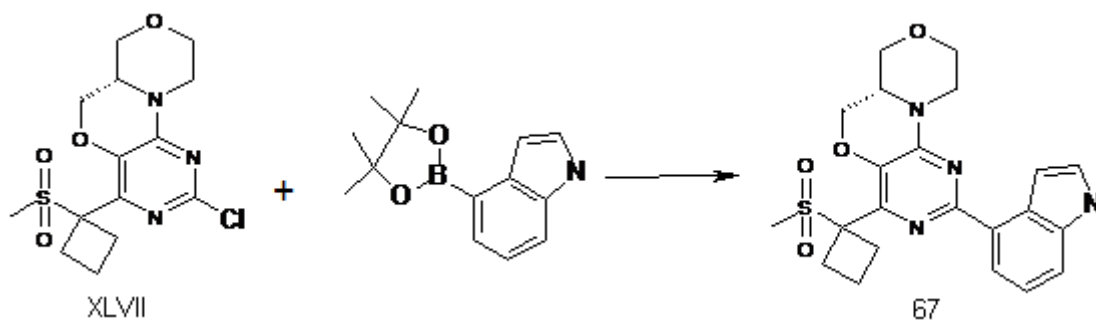
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 8.14 (кВ, $J=4.3$ Гц, 1H), 7.99 (д, $J=7.8$ Гц, 1H), 7.19 (д, $J=7.6$ Гц, 1H), 7.01 (т, $J=7.5$ Гц, 1H), 6.91 (т, $J=7.5$ Гц, 1H), 4.37 (дд, $J=11.0, 3.3$ Гц, 1H), 4.26 (д, $J=13.0$ Гц, 1H), 4.00 (д, $J=11.6$ Гц, 1H), 3.94 – 3.82 (м, 2H), 3.82 – 3.69 (м, 1H), 3.50 (т, $J=11.9$ Гц, 1H), 3.18 (дд, $J=22.2, 11.6$ Гц, 2H), 2.99 (с, 3H), 2.97 (д, $J=4.8$ Гц, 3H), 1.63 (с, 2H), 1.36 (с, 2H).

Інтермедіат XLIV



Інтермедіат XLIV синтезували за методикою, аналогічною до описаної для інтермедіата XXV, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

ПРИКЛАД 67

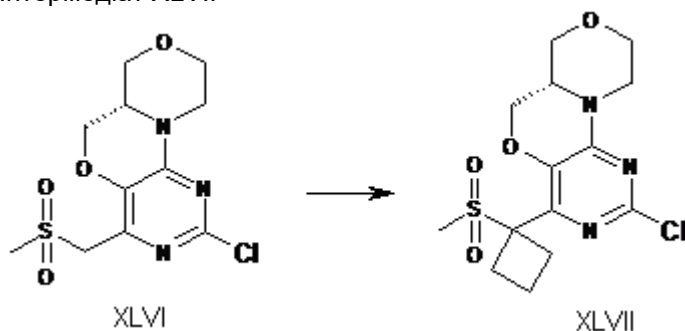


Суміш інтермедіата XLVII (100 мг, 0.30 ммоль), пінаколового ефіру індол-4-боронової кислоти (81 мг, 0.33 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PdPPh}_3)_2$ (20 мг, 0.03) і 0.6 мл Na_2CO_3 (2М водний розчин) у диоксані (2.0 мл) нагрівали при 100°C 5 годин. Суміш темного кольору фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Фільтрат випаровували у вакуумі, і залишок очищали колонковою флеш-хроматографією Biotage, елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25 % до 75 % EtOAc). Цільовий продукт ще раз очищали методом преп-ВЕРХ. Цільову кінцеву сполуку 67 одержували у вигляді білої твердої речовини.

LC-MS1: $t_R=5.05$ хв., MS: 441.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

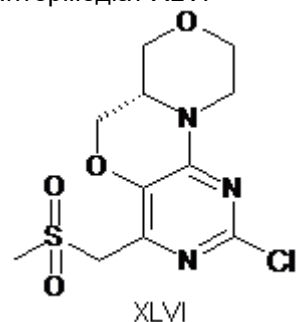
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO) δ 11.14 (с, 1H), 7.93 (д, $J=7.4$ Гц, 1H), 7.41 (д, $J=8.0$ Гц, 1H), 7.33 (д, $J=2.3$ Гц, 1H), 7.24 (с, 1H), 7.09 (т, $J=7.7$ Гц, 1H), 4.49 (д, $J=12.9$ Гц, 1H), 4.29 (дд, $J=10.9, 3.1$ Гц, 1H), 3.98 (д, $J=11.5$ Гц, 1H), 3.87 – 3.80 (м, 2H), 3.67 (т, $J=9.5$ Гц, 1H), 3.50 (т, $J=10.6$ Гц, 1H), 3.23 – 3.00 (м, 2H), 2.99 – 2.80 (м, 4H), 2.79 (с, 3H), 2.09 – 2.07 (м, 1H), 1.85 – 1.80 (м, 1H).

Інтермедіат XLVII



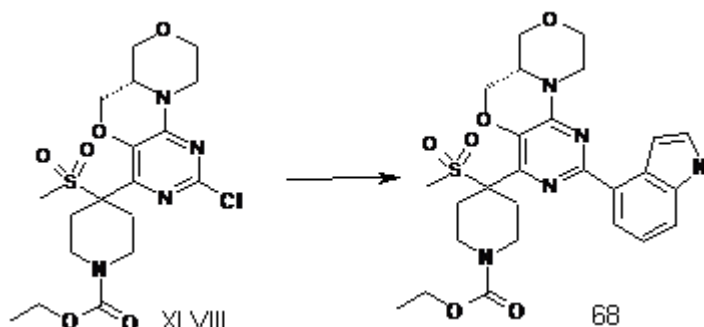
Суміш інтермедіата XLVI (30 мг, 0.1 ммоль), 1,3-дибромпропану (22 мкл, 0.21 ммоль), ТВАВ (6 мг) і 10М водного розчину NaOH (0.1 мл) у толуолі (1 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском при 110°C протягом 18 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури й розбавляли сумішшю етилацетат/вода. Шари розділяли, і водну фазу екстрагували два рази етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Жовтий залишок був інтермедіатом XLVII.

Інтермедіат XLVI



Інтермедіат XLVI синтезували за методикою, аналогічною до описаної для інтермедіата IX, застосовуючи як прекурсор 3(R)-гідроксиметилморфолін.

ПРИКЛАД 68

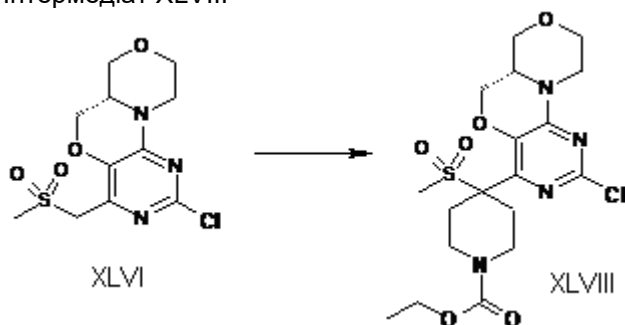


Суміш інтермедіата XLVIII (110 мг, 0.24 ммоль), пінакового ефіру індол-4-боронової кислоти (70 мг, 0.28 ммоль), $\text{PdCl}_2(\text{PdPPh}_3)_2$ (17 мг, 0.02) і 0.5 мол Na_2CO_3 (2М водний розчин) у диоксані (2.0 мл) нагрівали при 100°C 4 години. Суміш темного кольору фільтрували крізь шар целіту, промиваючи дихлорметаном. Фільтрат випаровували у вакуумі, і залишок очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 15 % до 100 % EtOAc). Приклад 68 одержували у вигляді білої твердої речовини.

LC-MS1: $t_R=5.14$ хв., MS: 542.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

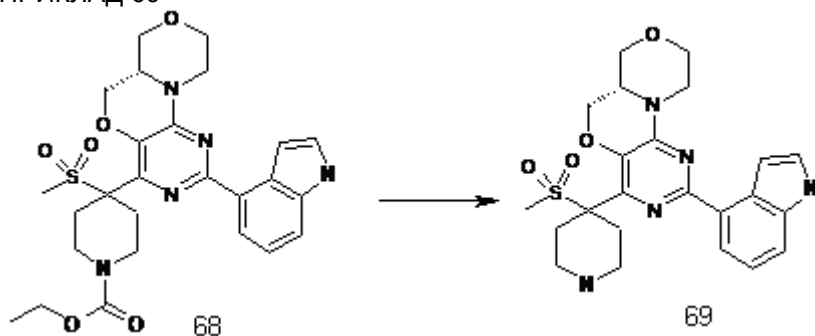
^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.23 (с, 1H), 7.96 (д, $J=7.5$ Гц, 1H), 7.49 (д, $J=7.9$ Гц, 1H), 7.43 (с, 1H), 7.24 (с, 1H), 7.16 (т, $J=7.8$ Гц, 1H), 4.62 (д, $J=12.3$ Гц, 1H), 4.39 (дд, $J=10.9, 3.2$ Гц, 1H), 4.09 – 3.07 (м, 7H), 3.78 (т, $J=10.8$ Гц, 1H), 3.57 (т, $J=12.8$ Гц, 1H), 3.32 – 3.08 (м, 5H), 2.89 (с, 3H), 2.80 (дд, $J=15.3, 11.7$ Гц, 1H), 2.06 – 1.84 (м, 2H), 1.16 (т, $J=7.0$ Гц, 3H).

Інтермедіат XLVIII



Суміш інтермедіата XLVI (200 мг, 0.6 ммоль), ефіру біс-(2-хлор-етил)карбамінової кислоти (335 мкл, 1.5 ммоль), ТВАВ (40 мг) і 10М водного розчину NaOH (0.6 мл) у толуолі (2 мл) нагрівали в пробірці для проведення реакцій під тиском при 110°C протягом 18 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури й розбавляли водою й EtOAc. Шари розділяли, і водний шар екстрагували два рази етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію, сушили над Na_2SO_4 і випаровували у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 10 г), елюючи сумішшю розчинників EtOAc/циклогексан (від 25 до 75 % EtOAc). Цільову кінцеву сполуку XLVIII одержували у вигляді кремової твердої речовини (100 мг, 33 %).

ПРИКЛАД 69



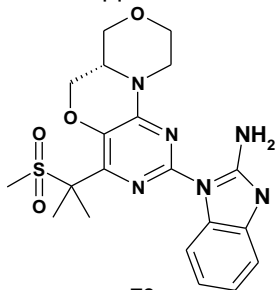
Суміш 68 (60 мг, 0.11 ммоль) і LiOH (60 мг, 1.4 ммоль) у суміші розчинників MeOH/2-пропанол (1:1, 2 мл) нагрівали в мікrohвильовій печі 150 хв. при 160°C (Biotage Abs. Level VH). Видаляли розчинники у вакуумі. Отриманий сирий продукт очищали методом флеш-хроматографії (Isolute Si II 5 г), елюючи сумішшю розчинників: спочатку MeOH/ДХМ (від 0 % до 5 % MeOH) і потім NH_3 у суміші MeOH/ДХМ (5 % 7н. розчину NH_3 в MeOH). Цільовий кінцевий

продукт 69 одержували у вигляді білої твердої речовини (15 мг, 28 %).

LC-MS1: t_R =2.54 хв.; 2.71 хв., MS: 470.2 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.15 (с, 1H), 7.88 (д, J=7.5 Гц, 1H), 7.41 (д, J=7.9 Гц, 1H), 7.35 (с, 1H), 7.19 (с, 1H), 7.09 (т, J=7.7 Гц, 1H), 4.55 (д, J=12.7 Гц, 1H), 4.31 (дд, J=10.5, 2.9 Гц, 1H), 4.00 (д, J=8.6 Гц, 1H), 3.93 – 3.64 (м, 3H), 3.51 (т, J=11.3 Гц, 1H), 3.19 – 3.06 (м, 4H), 2.91 (д, J=12.4 Гц, 2H), 2.74 (с, 3H), 2.40 – 2.33 (м, 2H), 1.94 – 1.82 (м, 2H).

ПРИКЛАД 70



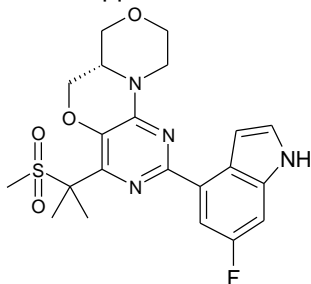
70

Сполуку 70 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 2-амінобензимидазолом (розчинник ацетонітрил, 130°C, 3 дні).

LC-MS1: t_R =2.983 хв., MS 445.20 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.97 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.39 (розшир.с, 2H), 7.18 (д, J=7.5 Гц, 1H), 7.05 (тд, J=7.5, 1.0 Гц, 1H), 6.99-6.92 (м, 1H), 4.40 (дт, J=15.1, 7.7 Гц, 2H), 4.05 (дд, J=11.5, 3.2 Гц, 1H), 3.99 – 3.79 (м, 3H), 3.56 (тд, J=11.6, 2.3 Гц, 1H), 3.21 (м, 2H), 3.01 (с, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.81 (с, 3H).

ПРИКЛАД 71



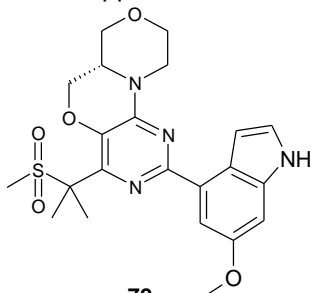
71

Сполуку 71 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 6-фторіндол-4-боронової кислоти.

LC-MS1: t_R =5.14 хв.; MS: 447.2 [M+H]⁺.

1H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d6): δ 11.29 (розшир.с, 1H), 7.74 (дд, J=11.4, 2.2 Гц, 1H), 7.43 (розшир.т, J=2.5 Гц, 1H), 7.31 (розшир.с, 1H), 7.26 (дд, J=9.3, 2.2 Гц, 1H), 4.57 (розшир.д, J=12.6 Гц, 1H), 4.40 (дд, J=10.8, 3.3 Гц, 1H), 4.05 (розшир.д, J=11.2 Гц, 1H), 3.96-3.86 (м, 2H), 3.80-3.73 (м, 1H), 3.55 (розшир.т, J=11.2 Гц, 1H), 3.25-3.09 (м, 2H), 2.95 (с, 3H), 1.89 (с, 3H), 1.87 (с, 3H) м.д.

ПРИКЛАД 72



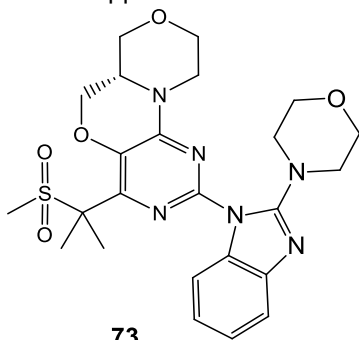
72

Сполуку 72 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 6-метоксіндол-4-боронової кислоти.

LC-MS1: t_R =4.89 хв.; MS: 459.3 [M+H]⁺.

¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ 11.00 (розшир.с, 1H), 7.60 (д, J=2.3 Гц, 1H), 7.27 (розшир.т, J=2.5 Гц, 1H), 7.19 (розшир.с, 1H), 7.00 (д, J=2.3 Гц, 1H), 4.56 (розшир.д, J=12.6 Гц, 1H), 4.39 (дд, J=10.8, 3.3 Гц, 1H), 4.06 (розшир.д, J=11.5 Гц, 1H), 3.96-3.85 (м, 2H), 3.81 (с, 3H), 3.81-3.70 (м, 1H), 3.56 (розшир.т, J=11.6 Гц, 1H), 3.25-3.08 (м, 2H), 2.95 (с, 3H), 1.88 (с, 3H), 1.86 (с, 3H) м.д.

ПРИКЛАД 73



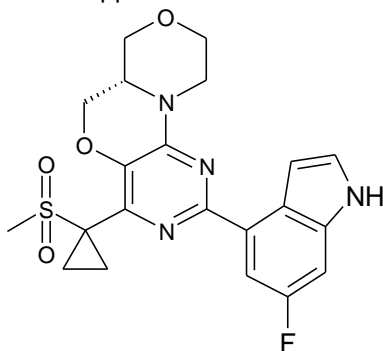
73

Сполуку 73 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 2-морфолін-4-іл-1H-бензімідазолом (розчинник ацетонітрил, 130°C, 3 дня).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.65 (д, J=7.5 Гц, 1H), 7.38 (д, J=7.5 Гц, 1H), 7.12 (тд, J=7.6, 1.1 Гц, 1H), 7.06 – 6.97 (м, 1H), 4.43 (дд, J=15.6, 8.1 Гц, 2H), 4.06 – 3.77 (м, 4H), 3.65 (с, 4H), 3.56 – 3.44 (м, 1H), 3.27 – 3.07 (м, 6H), 2.99 (с, 3H), 1.83 (с, 3H), 1.81 (с, 3H).

LC-MS1: t_R=3.167 хв., MS: 515.30 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 74



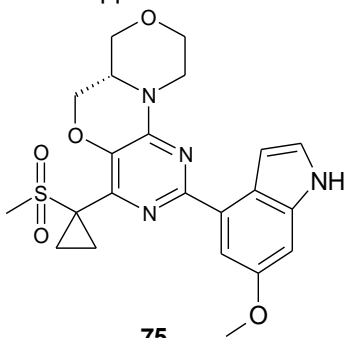
74

Сполуку 74 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з пінаколовим ефіром 6-фтор індол-4-боронової кислоти.

LCMS 1=t_R=4.825 хв., MS: 445.2 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.05 (с, 1H), 7.53 (дд, J=11.5, 2.4 Гц, 1H), 7.25 – 7.16 (м, 1H), 7.13 (с, 1H), 7.04 (дд, J=9.1, 2.1 Гц, 1H), 4.29 (д, J=11.8 Гц, 1H), 4.21 (дд, J=11.0, 3.4 Гц, 1H), 3.89 – 3.79 (м, 1H), 3.72 (дд, J=13.4, 6.2 Гц, 2H), 3.52 (т, J=9.7 Гц, 1H), 3.34 (дд, J=11.9, 9.2 Гц, 1H), 3.07 – 2.88 (м, 2H), 2.85 (с, 3H), 1.55 – 1.43 (м, 2H), 1.20-1.19 (м, 2H).

ПРИКЛАД 75



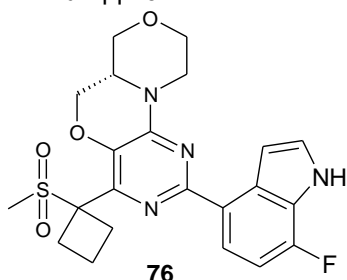
75

Сполуку 75 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з пінаколовим ефіром 6-метокси індол-4-боронової кислоти.

LCMS 1= t_R =4.311 хв., MS: 457.1 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.19 (с, 1H), 7.81 (д, J=2.3 Гц, 1H), 7.51 – 7.35 (м, 2H), 7.20 (д, J=2.1 Гц, 1H), 4.70 (д, J=11.8 Гц, 1H), 4.62 (дд, J=11.0, 3.4 Гц, 1H), 4.25 (д, J=8.5 Гц, 1H), 4.18 – 4.06 (м, 2H), 4.00 (с, 3H), 3.97 – 3.86 (м, 1H), 3.75 (т, J=10.7 Гц, 1H), 3.47 – 3.29 (м, 2H), 3.28 (с, 3H), 1.89 (д, J=3.5 Гц, 2H), 1.61 (д, J=3.8 Гц, 2H).

ПРИКЛАД 76



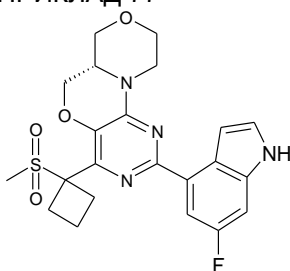
76

Сполуку 76 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 7-фтор індол-4-боронової кислоти.

LC-MS1, t_R =6.09 хв., MS: 459.1 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 10.96 (с, 1H), 8.07 (дд, J=8.4, 5.4 Гц, 1H), 7.53 (м, 1H), 6.90 (дд, J=10.1, 8.4 Гц, 1H), 6.58 (дд, J=2.9, 2.3 Гц, 1H), 4.60 (дд, J=13.1, 1.4 Гц, 1H), 4.36 (дд, J=11.0, 3.4 Гц, 1H), 4.03 (дд, J=11.5, 3.2 Гц, 1H), 3.92 (м, 2H), 3.75 (дт, J=9.5, 3.3 Гц, 1H), 3.55 (м, 1H), 3.20 (т, J=10.8 Гц, 1H), 3.11 (тд, J=12.8, 3.8 Гц, 1H), 2.94 (м, 4H), 2.89 (с, 3H), 2.18 (м, 1H), 1.87 (м, 1H).

ПРИКЛАД 77



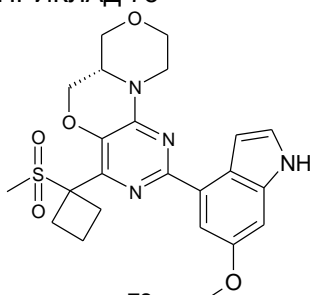
77

Сполуку 77 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 6-фтор індол-4-боронової кислоти.

LC-MS1, t_R =5.24 хв., MS: 459.1 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.28 (с, 1H), 7.77 (дд, J=11.5, 2.4 Гц, 1H), 7.41 (м, 1H), 7.31 (т, J=2.1 Гц, 1H), 7.26 (дд, J=9.2, 2.3 Гц, 1H), 4.55 (дд, J=13.2, 1.5 Гц, 1H), 4.36 (дд, J=10.9, 3.3 Гц, 1H), 4.05 (дд, J=11.5, 3.2 Гц, 1H), 3.92 (м, 2H), 3.75 (м, 1H), 3.56 (тд, J=12.1, 2.2 Гц, 1H), 3.15 (м, 2H), 2.95 (м, 4H), 2.86 (с, 3H), 2.14 (м, 1H), 1.88 (м, 1H).

ПРИКЛАД 78



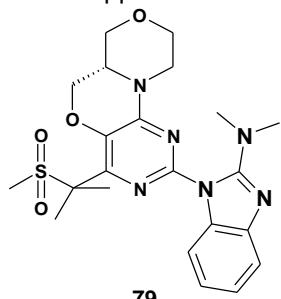
78

Сполуку 78 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 6-метокси індол-4-боронової кислоти.

LC-MS1, t_R =4.95 хв., MS: 471.1 [M+H]⁺.

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.00 (с, 1H), 7.63 (д, J=2.4 Гц, 1H), 7.20 (м, 1H), 7.17 (м, 1H), 7.00 (д, J=2.0 Гц, 1H), 4.53 (д, J=11.5 Гц, 1H), 4.35 (дд, J=10.9, 3.3 Гц, 1H), 4.05 (дд, J=11.6, 3.2 Гц, 1H), 3.91 (м, 2H), 3.80 (с, 3H), 3.73 (м, 1H), 3.56 (тд, J=11.7, 2.4 Гц, 1H), 3.15 (м, 2H), 2.95 (м, 4H), 2.85 (с, 3H), 2.14 (м, 1H), 1.88 (м, 1H).

ПРИКЛАД 79



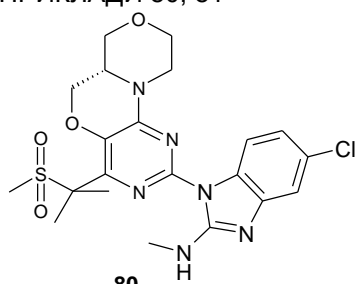
79

Сполуку 79 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з N, N-диметил-1H-бензімідазол-2-аміном (розчинник ацетонітрил, 130°C, 3 дні).

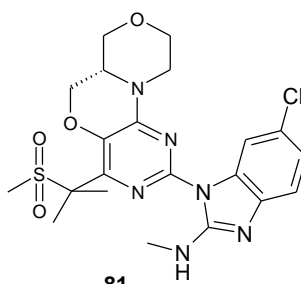
LC-MS1: t_R =2.820 хв., MS: 473.30 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.51 (д, J=7.9 Гц, 1H), 7.30 (д, J=7.7 Гц, 1H), 7.07 (т, J=7.6 Гц, 1H), 6.94 (т, J=7.6 Гц, 1H), 4.39 (дд, J=25.1, 11.5 Гц, 2H), 4.03 – 3.87 (м, 3H), 3.82 (т, J=9.1 Гц, 1H), 3.51 (т, J=11.4 Гц, 1H), 3.26 – 3.17 (м, 1H), 3.11 (дд, J=12.7, 2.8 Гц, 1H), 3.00 (с, 3H), 2.87 (с, 6H), 1.81 (с, 3H), 1.79 (с, 3H).

ПРИКЛАДИ 80, 81



80



81

Сполуки 80 і 81 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 5-хлор-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

Приклад 80:

LC-MS1: t_R =3.602 хв., MS: 493.10 [M+H]⁺.

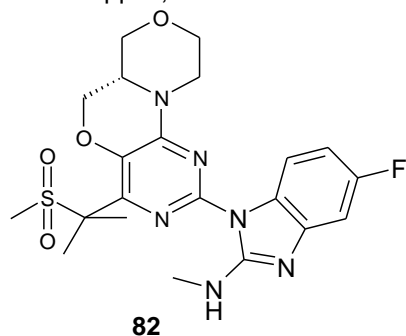
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.25 (с, 1H), 8.04 (д, J=2.0 Гц, 1H), 7.25 (д, J=8.3 Гц, 1H), 7.12 (д, J=8.3 Гц, 1H), 4.43 (дд, J=10.7, 3.1 Гц, 1H), 4.31 (д, J=13.0 Гц, 1H), 4.07 (дд, J=11.5, 3.4 Гц, 1H), 4.00 – 3.81 (м, 3H), 3.65 – 3.54 (м, 1H), 3.30 – 3.20 (м, 2H), 3.04 (с, 6H), 1.84 (с, 3H), 1.82 (с, 3H).

Приклад 81:

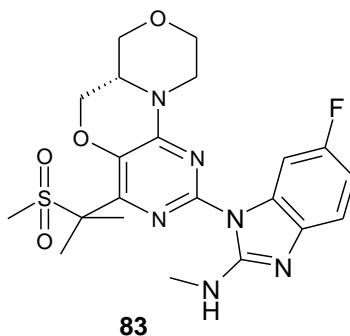
LC-MS1: t_R =3.651 хв., MS 493.10 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.37 (д, J=4.8 Гц, 1H), 7.96 (д, J=8.5 Гц, 1H), 7.26 (д, J=2.0 Гц, 1H), 6.98 (дд, J=8.5, 2.0 Гц, 1H), 4.42 (дд, J=10.6, 2.9 Гц, 1H), 4.33 (д, J=12.3 Гц, 1H), 4.08 – 3.78 (м, 4H), 3.56 (дд, J=11.7, 9.6 Гц, 1H), 3.27 – 3.16 (м, 2H), 3.03 (розшир.с, 6H), 1.82 (с, 3H), 1.80 (с, 3H).

ПРИКЛАД 82, 83



82



83

Сполуки 82 і 83 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 5-фтор-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

Приклад 82:

¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ = 7.98 (кв, J=5.0 Гц, 1H), 7.68 (дд, J=9.9, 2.5 Гц, 1H), 7.12 (дд,

$J=8.7, 5.1$ Гц, 1H), 6.86-6.79 (м, 1H), 4.33 (дд, $J=10.8, 4.2$ Гц, 1H), 4.23 (розшир.д, $J=12.9$ Гц, 1H), 3.98 (дд, $J=11.7, 3.3$ Гц, 1H), 3.89-3.69 (м, 3H), 3.52-3.44 (м, 1H), 3.20-3.07 (м, 2H), 2.94 (с, 3H), 2.91 (д, $J=5.0$ Гц, 3H), 1.74 (с, 3H), 1.72 (с, 3H) м.д.

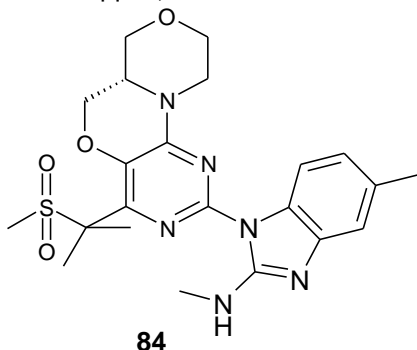
LC-MS 1: $t_R=3.18$ хв.; MS: 477.1 $[M+H]^+$.

5 Приклад 83:

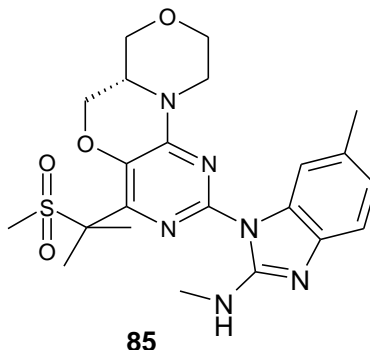
1H -ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6): $\delta=8.29$ (кВ, $J=4.8$ Гц, 1H), 7.97 (дд, $J=8.7, 5.1$ Гц, 1H), 7.04 (дд, $J=9.6, 2.4$ Гц, 1H), 6.78 (тд, $J=8.7, 2.4$ Гц, 1H), 4.44-4.34 (м, 2H), 4.09-3.78 (м, 4H), 3.61-3.49 (м, 1H), 3.31-3.16 (м, 2H), 3.03 (с, 3H), 3.02 (д, $J=4.8$ Гц, 3H), 1.82 (с, 3H), 1.81 (с, 3H) м.д.

LC-MS 1: $t_R=3.27$ хв.; MS: 477.1 $[M+H]^+$.

10 ПРИКЛАД 84, 85



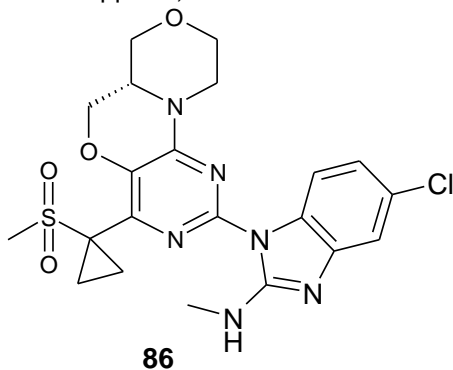
84



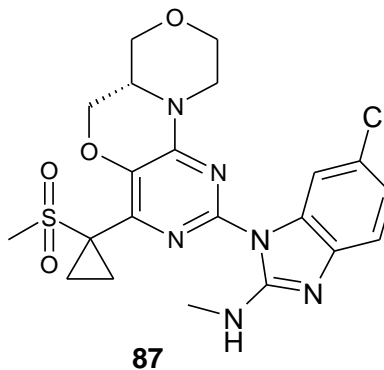
85

Сполуки 84 і 85 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 5-метил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

15 ПРИКЛАДИ 86, 87



86



87

Сполуки 86 і 87 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 66, реакцією хірального інтермедіата XLIV з 5-метил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

20 Приклад 86:

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 7.98 (д, $J=4.9$ Гц, 1H), 7.86 (д, $J=1.9$ Гц, 1H), 7.03 (д, $J=8.4$ Гц, 1H), 6.90 (дд, $J=8.4, 2.0$ Гц, 1H), 4.23 (д, $J=7.8$ Гц, 1H), 4.05 (д, $J=12.6$ Гц, 1H), 3.86 (д, $J=8.1$ Гц, 1H), 3.82 – 3.70 (м, 2H), 3.71 – 3.53 (м, 1H), 3.38 (дд, $J=14.7, 7.9$ Гц, 1H), 3.05 (дд, $J=19.6, 13.6$ Гц, 2H), 2.90 – 2.79 (м, 6H), 1.48 (с, 2H), 1.21 (с, 2H).

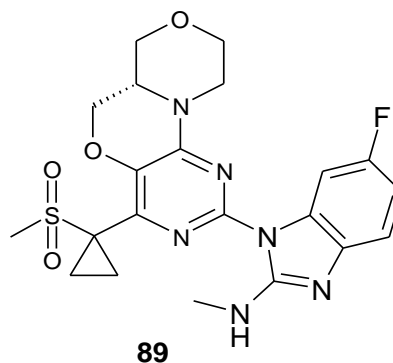
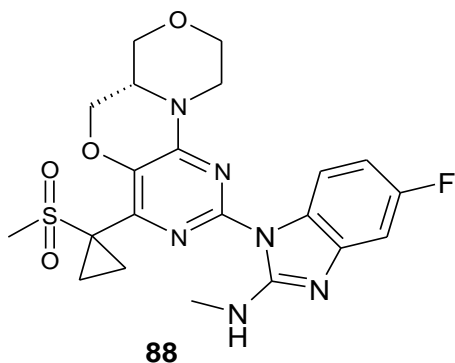
25 LCMS 1: $t_R=3.53$ хв., MS: 491.1 $[M+H]^+$.

Приклад 87:

1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.34 (д, $J=4.8$ Гц, 1H), 8.03 (д, $J=8.5$ Гц, 1H), 7.27 (д, $J=2.0$ Гц, 1H), 6.99 (дд, $J=8.5, 2.1$ Гц, 1H), 4.44 (дд, $J=10.9, 3.3$ Гц, 1H), 4.31 (д, $J=12.5$ Гц, 1H), 4.05 (д, $J=8.0$ Гц, 1H), 4.01 – 3.89 (м, 2H), 3.89 – 3.73 (м, 1H), 3.57 (т, $J=11.8$ Гц, 1H), 3.29 – 3.13 (м, 2H), 3.10 – 3.00 (м, 6H), 1.69 (с, 2H), 1.42 (с, 2H).

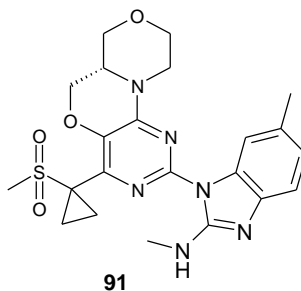
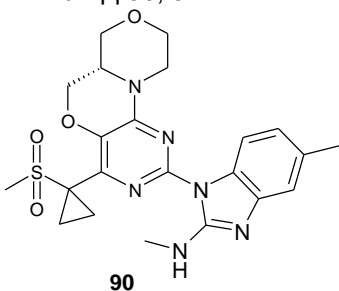
30 LCMS 1: $t_R=3.59$ хв., MS: 491.1 $[M+H]^+$.

ПРИКЛАД 88, 89



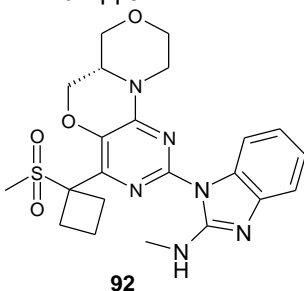
Сполуки 88 і 89 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 66, реакцією хірального інтермедіата XLIV з 5-метил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

5 ПРИКЛАД 90, 91



Сполуки 90 і 91 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 66, реакцією хірального інтермедіата XLIV з 5-метил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

10 ПРИКЛАД 92

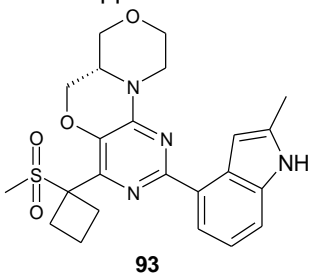


Сполуку 92 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладів 90, 91, реакцією хірального інтермедіата XLVII з N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

15 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.12 (д, J=4.9 Гц, 1H), 8.05 (д, J=7.4 Гц, 1H), 7.25 (д, J=6.9 Гц, 1H), 7.07 (м, 1H), 6.98 (дд, J=11.5, 3.8 Гц, 1H), 4.36 (м, 2H), 4.06 (м, 1H), 3.93 (дд, J=10.9, 8.4 Гц, 2H), 3.83 (м, 1H), 3.58 (т, J=10.5 Гц, 1H), 3.22 (т, J=10.8 Гц, 2H), 3.01 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.91 (с, 3H), 2.85 (м, 4H), 2.16 (дд, J=19.0, 10.1 Гц, 1H), 1.90 (м, 1H).

LCMS1: t_R=3.19хв; MS=471.0 [M+H]⁺.

20 ПРИКЛАД 93

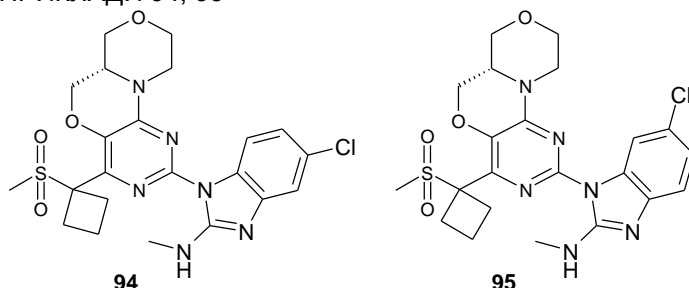


Сполуку 93 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 2-метил індол-4-боронової кислоти.

25 LC-MS1, Rt=5.13 хв., MS: 455.1 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.02 (с, 1H), 7.95 (дд, J=7.6, 0.8 Гц, 1H), 7.33 (д, J=7.9 Гц, 1H), 7.05 (т, J=7.7 Гц, 1H), 7.00 (с, 1H), 4.55 (дд, J=13.0, 1.3 Гц, 1H), 4.34 (дд, J=11.0, 3.3 Гц, 1H), 4.05 (дд, J=11.4, 3.0 Гц, 1H), 3.90 (м, 2H), 3.73 (т, J=9.6 Гц, 1H), 3.56 (дд, J=12.0, 9.1 Гц, 1H), 3.21 (т, J=10.8 Гц, 1H), 3.12 (м, 1H), 2.97 (м, 4H), 2.85 (с, 3H), 2.41 (с, 3H), 2.13 (м, 1H), 1.88 (м, 1H).

5 ПРИКЛАДИ 94, 95



Сполуки 94 і 95 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладів 90, 91, реакцією хірального інтермедіата XLVII з 5-хлор-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

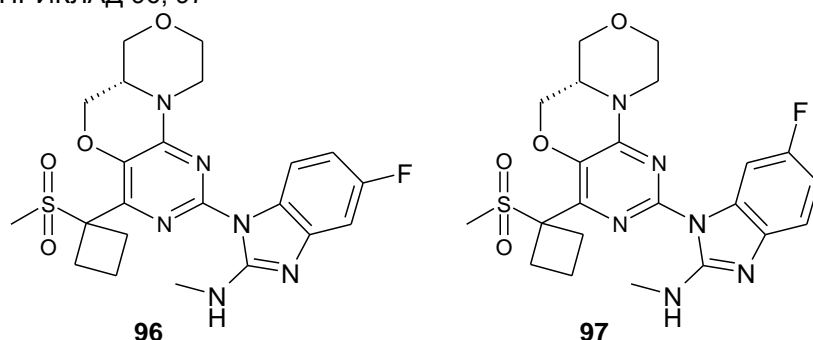
10 Приклад 94:

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.24 (кВ, J=4.7 Гц, 1H), 8.02 (д, J=8.5 Гц, 1H), 7.27 (д, J=2.1 Гц, 1H), 6.99 (дд, J=8.5, 2.1 Гц, 1H), 4.37 (дд, J=11.0, 3.5 Гц, 1H), 4.32 (д, J=11.8 Гц, 1H), 4.05 (д, J=8.2 Гц, 1H), 3.93 (м, 2H), 3.81 (м, 1H), 3.57 (т, J=10.5 Гц, 1H), 3.22 (т, J=10.9 Гц, 2H), 3.02 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.91 (с, 3H), 2.84 (м, 4H), 2.16 (дд, J=19.2, 10.0 Гц, 1H), 1.89 (с, 1H). LCMS1: t_R=3.88 хв.; MS=505.1 [M+H]⁺.

15 Приклад 95:

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.11 (д, J=4.9 Гц, 1H), 8.07 (д, J=2.1 Гц, 1H), 7.24 (д, J=8.4 Гц, 1H), 7.10 (дд, J=8.4, 2.1 Гц, 1H), 4.38 (дд, J=11.0, 3.3 Гц, 1H), 4.26 (д, J=11.6 Гц, 1H), 4.07 (дд, J=11.6, 3.4 Гц, 1H), 3.94 (дд, J=11.0, 8.2 Гц, 2H), 3.83 (м, 1H), 3.59 (тд, J=12.0, 2.6 Гц, 1H), 3.25 (м, 2H), 3.02 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.91 (с, 3H), 2.85 (м, 4H), 2.17 (м, 1H), 1.90 (м, 1H). LCMS1: t_R=3.81хв; MS=505.0 [M+H]⁺.

20 ПРИКЛАД 96, 97



25 Сполуки 96 і 97 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладів 90, 91, реакцією хірального інтермедіата XLVII з 5-фтор-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

Приклад 96:

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.03 (кВ, J=4.4 Гц, 1H), 7.82 (дд, J=10.1, 2.6 Гц, 1H), 7.22 (дд, J=8.6, 5.1 Гц, 1H), 6.92 (м, 1H), 4.38 (дд, J=10.9, 3.3 Гц, 1H), 4.28 (д, J=12.8 Гц, 1H), 4.08 (дд, J=11.6, 3.4 Гц, 1H), 3.94 (м, 2H), 3.81 (м, 1H), 3.58 (м, 1H), 3.24 (м, 2H), 3.00 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.91 (с, 3H), 2.84 (м, 4H), 2.17 (дд, J=19.7, 9.2 Гц, 1H), 1.90 (м, 1H).

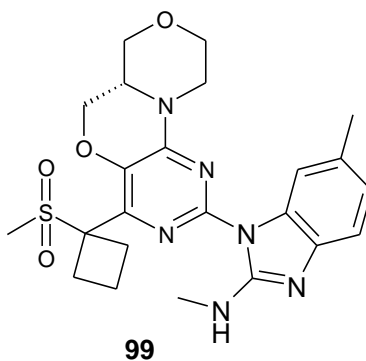
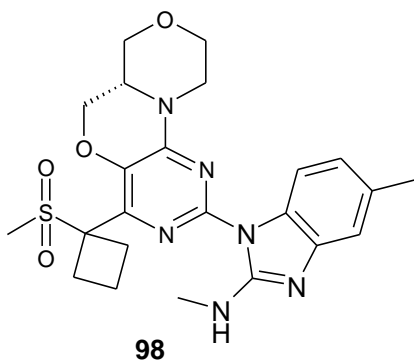
LC-MS1, Rt=3.36 хв., MS=489.1 [M+H]⁺.

Приклад 97:

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.24 (кВ, J=4.7 Гц, 1H), 8.02 (дд, J=8.8, 5.2 Гц, 1H), 7.05 (дд, J=9.8, 2.6 Гц, 1H), 6.78 (м, 1H), 4.36 (м, 2H), 4.06 (дд, J=11.7, 3.3 Гц, 1H), 3.93 (т, J=10.0 Гц, 2H), 3.81 (м, 1H), 3.58 (м, 1H), 3.22 (т, J=10.8 Гц, 2H), 3.02 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.91 (с, 3H), 2.85 (м, 4H), 2.17 (м, 1H), 1.89 (м, 1H).

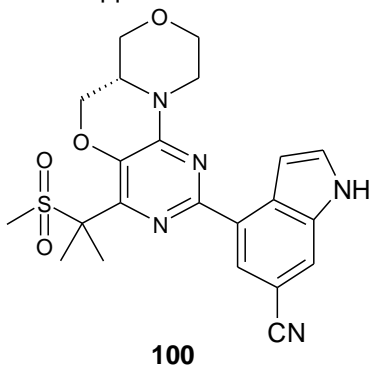
LC-MS1, Rt=3.46 хв., MS=489.1 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 98, 99



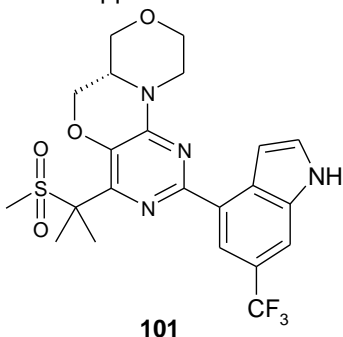
Сполуки 98 і 99 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладів 90, 91, реакцією хірального інтермедіата XLVII з 5-метил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

5 ПРИКЛАД 100



Сполуку 100 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 6-ціаноіндол-4-боронової кислоти.

10 ПРИКЛАД 101

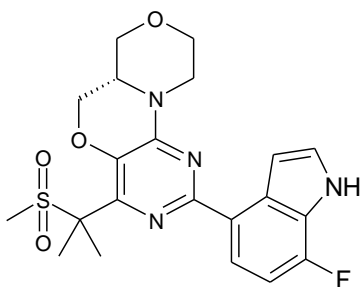


Сполуку 101 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 6-трифторметиліндол-4-боронової кислоти.

15 ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ 11.68 (розшир.с, 1H), 8.18 (розшир.с, 1H), 7.81 (розшир.с, 1H), 7.69 (розшир.т, J=2.7, 1H), 7.43 (розшир.с, 1H), 4.55 (розшир.д, J=11.7 Гц, 1H), 4.41 (дд, J=11.1, 3.6 Гц, 1H), 4.07 (дд, J=11.4, 3 Гц, 1H), 3.97-3.88 (м, 2H), 3.81-3.73 (м, 1H), 3.61-3.52 (м, 1H), 3.25-3.11 (м, 2H), 2.95 (с, 3H), 1.89 (с, 3H), 1.88 (с, 3H) м.д.

LC-MS 1: t_R=5.65 хв.; MS=497.2 [M+H]⁺.

20 ПРИКЛАД 102



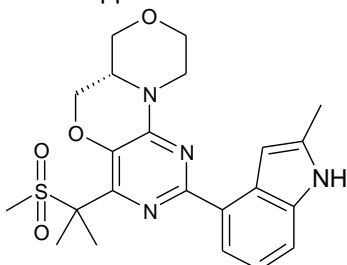
102

Сполуку 102 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 7-фтор індол-4-боронової кислоти.

¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ = 11.45 (розшир.с, 1H), 8.06 (дд, J=8.4, 5.4 Гц, 1H), 7.52 (розшир.т, J=2.7 Гц, 1H), 6.91 (дд, J=10.2, 8.4 Гц, 1H), 6.60 (розшир.т, J=2.7 Гц, 1H), 4.63 (розшир.д, J=11.7 Гц, 1H), 4.43 (дд, J=10.8, 3.3 Гц, 1H), 4.06-3.89 (м, 3H), 3.82-3.73 (м, 1H), 3.60-3.52 (м, 1H), 3.21 (т, J=10.8, 1H), 3.16-3.02 (м, 1H), 3.05 (с, 3H), 1.88 (с, 3H), 1.87 (с, 3H) м.д.

LC-MS 1: t_R=5.98 хв.; MS=447.1 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 103



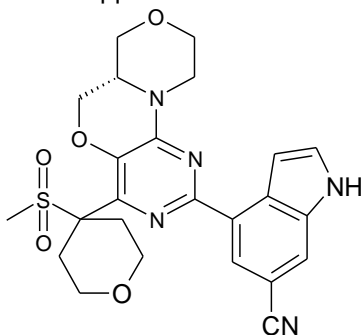
103

Сполуку 103 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 1, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XX з пінаколовим ефіром 2-метил індол-4-боронової кислоти.

¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ 11.00 (розшир.с, 1H), 7.87 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.30 (д, J=7.6 Гц, 1H), 7.02 (т, J=7.6 Гц, 1H), 6.96 (розшир.с, 1H), 4.56 (розшир.д, J=12.0 Гц, 1H), 4.36 (дд, J=10.8, 3.5 Гц, 1H), 4.03 (розшир.д, J=11.6 Гц, 1H), 3.93-3.82 (м, 2H), 3.76-3.68 (м, 1H), 3.53 (розшир.т, J=11.6 Гц, 1H), 3.22-3.05 (м, 2H), 2.92 (с, 3H), 2.39 (с, 3H), 1.86 (с, 3H), 1.84 (с, 3H) м.д.

LC-MS1: t_R=5.12 хв.; MS: 443.0 [M+H]⁺.

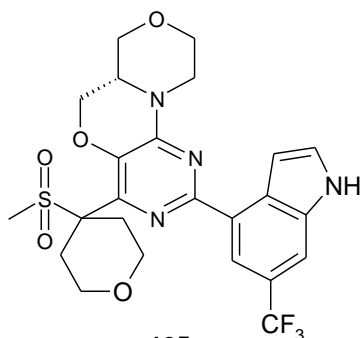
ПРИКЛАД 104



104

Сполуку 104 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 3, реакцією комбінації хірального інтермедіата XII з пінаколовим ефіром 6-ціано індол-4-боронової кислоти.

ПРИКЛАД 105

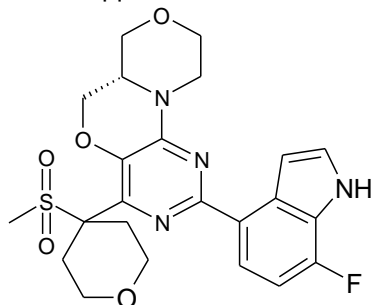
**105**

Сполуку 105 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 3, реакцією комбінації хірального інтермедіата XII з пінаколовим ефіром 6-трифторметил індол-4-боронової кислоти.

5 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.69 (с, 1H), 8.15 (с, 1H), 7.81 (с, 1H), 7.69 (т, J=2.7 Гц, 1H), 7.34 (с, 1H), 4.58 (д, J=12.0 Гц, 1H), 4.39 (м, 1H), 4.08 (д, J=11.4 Гц, 1H), 3.93 (м, 4H), 3.79 (м, 1H), 3.58 (т, J=10.6 Гц, 1H), 3.27-3.13 (м, 6H), 2.88 (с, 3H), 2.10 (м, 2H).

LCMS1: t_R=5.39хв; MS=539.2 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 106

**106**

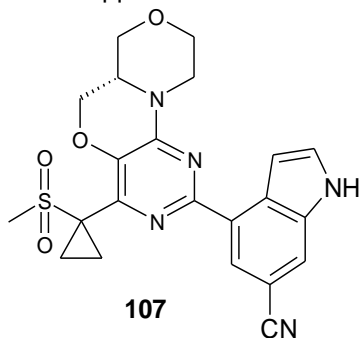
10

Сполуку 106 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 3, реакцією комбінації хірального інтермедіата XII з пінаколовим ефіром 7-фтор індол-4-боронової кислоти.

15 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.04 (с, 1H), 8.00 (дд, J=8.3, 5.3 Гц, 1H), 7.52 (д, J=2.6 Гц, 1H), 6.91 (дд, J=10.1, 8.4 Гц, 1H), 6.59 (м, 1H), 4.66 (д, J=13.2 Гц, 1H), 4.39 (дд, J=10.9, 3.3 Гц, 1H), 4.04 (д, J=11.5 Гц, 1H), 3.93 (м, 4H), 3.79 (м, 1H), 3.58 (т, J=10.5 Гц, 1H), 3.24 (м, 4H), 3.07 (д, J=13.7 Гц, 2H), 2.93 (с, 3H), 2.14 (м, 2H).

LCMS1: t_R=5.62хв; MS=489.1 [M+H]⁺.

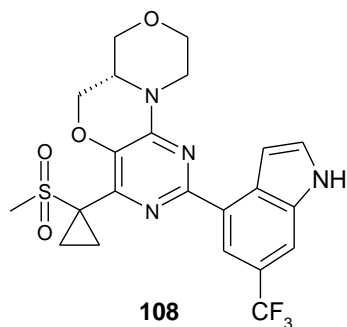
ПРИКЛАД 107

**107**

20

Сполуку 107 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з 6 пінаколовим ефіром-ціано індол-4-боронової кислоти.

ПРИКЛАД 108

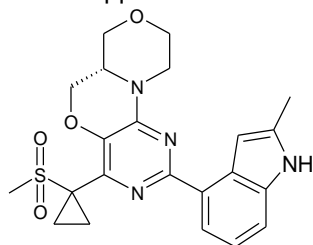


Сполуку 108 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з пінаколовим ефіром 6-трифторметил індол-4-боронової кислоти.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.68 (с, 1H), 8.20 (д, J=1.4 Гц, 1H), 7.81 (с, 1H), 7.69 (т, J=2.7 Гц, 1H), 7.47 (с, 1H), 4.46 (дд, J=18.7, 7.6 Гц, 2H), 4.08 (д, J=8.2 Гц, 1H), 4.02 – 3.90 (м, 2H), 3.83 – 3.68 (м, 1H), 3.57 (т, J=10.6 Гц, 1H), 3.32-3.13 (м, 2H), 3.08 (с, 3H), 1.77 – 1.67 (м, 2H), 1.44 – 1.43 (м, 2H).

LCMS 1=tr 5.38 хв.; MS=495.1 1 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 109

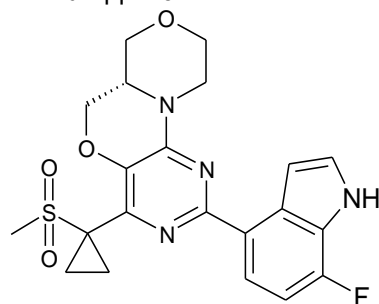


Сполуку 109 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з пінаколовим ефіром 2-метил індол-4-боронової кислоти.

LCMS 1=tr=4.141 хв., MS: 441.1 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 10.80 (с, 1H), 7.70 (дд, J=7.5, 0.9 Гц, 1H), 7.11 (д, J=7.9 Гц, 1H), 6.90 – 6.69 (м, 2H), 4.30 (д, J=11.8 Гц, 1H), 4.19 (дд, J=11.0, 3.3 Гц, 1H), 3.83 (дд, J=14.5, 5.1 Гц, 1H), 3.78 – 3.65 (м, 2H), 3.51 (т, J=9.7 Гц, 1H), 3.34 (дд, J=12.0, 9.2 Гц, 1H), 3.08 – 2.91 (м, 2H), 2.87 (с, 3H), 2.20 (с, 3H), 1.54 – 1.46 (м, 2H), 1.20-1.17 (м, 2H).

ПРИКЛАД 110

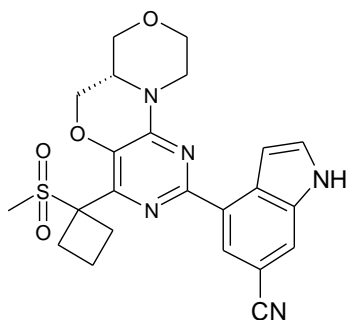


Сполуку 110 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 6, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLIV з пінаколовим ефіром 7-фтор індол-4-боронової кислоти.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.17 (с, 1H), 8.10 (дд, J=8.4, 5.4 Гц, 1H), 7.61 – 7.50 (м, 1H), 6.92 (дд, J=10.1, 8.4 Гц, 1H), 6.64 – 6.56 (м, 1H), 4.59 (д, J=11.4 Гц, 1H), 4.44 (дд, J=11.0, 3.5 Гц, 1H), 4.11 – 3.87 (м, 3H), 3.85 – 3.70 (м, 1H), 3.85 – 3.68 (м, 1H), 3.56 (т, J=10.5 Гц, 1H), 3.32 – 3.10 (м, 2H), 3.08 (с, 3H), 1.79 – 1.70 (м, 2H), 1.51 – 1.42 (м, 2H).

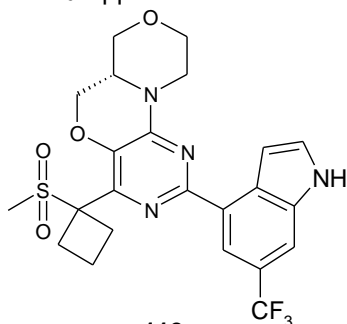
LCMS 1=Rt=5.77 хв., MS=445.1 [M+H]⁺.

ПРИКЛАД 111

**111**

Сполуку 111 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 6-ціаноіндол-4-боронової кислоти.

5 ПРИКЛАД 112

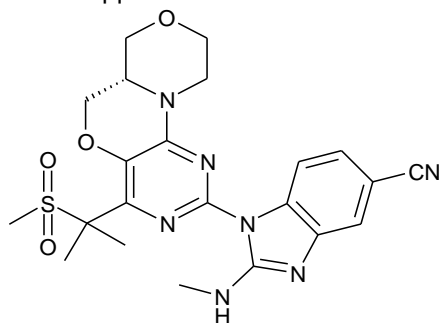
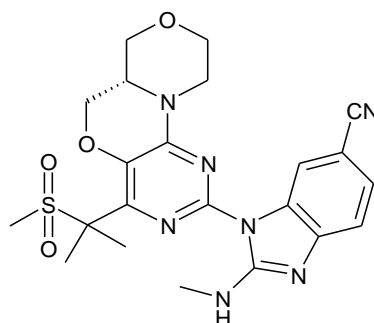
**112**

Сполуку 112 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 67, за реакцією комбінації хірального інтермедіата XLVII з пінаколовим ефіром 6-трифторметиліндол-4-боронової кислоти.

10 LC-MS1, Rt=5.74 хв., MS=509.1 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 11.67 (с, 1H), 8.22 (д, J=1.2 Гц, 1H), 7.81 (д, J=0.5 Гц, 1H), 7.68 (м, 1H), 7.43 (с, 1H), 4.51 (д, J=11.4 Гц, 1H), 4.36 (м, 1H), 4.05 (м, 1H), 3.94 (м, 2H), 3.75 (м, 1H), 3.57 (м, 1H), 3.21 (м, 2H), 2.95 (м, 4H), 2.86 (с, 3H), 2.13 (м, 1H), 188 (м, 1H).

ПРИКЛАДИ 113 і 114

**113****114**

15 Сполуку 113 і 114 синтезували за схемою синтезу, аналогічною до використаної для синтезу Прикладу 11, реакцією хірального інтермедіата XX з 5-карбонітрил-N-метил-1H-1,3-бензодіазол-2-аміном.

Приклад 113

20 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.36 (д, J=4.8 Гц, 1H), 8.22 (с, 1H), 7.45 (д, J=8.3 Гц, 1H), 7.31 (д, J=8.2 Гц, 1H), 4.37 (дд, J=10.8, 3.1 Гц, 1H), 4.26 (д, J=11.7 Гц, 1H), 4.07 – 3.71 (м, 4H), 3.53 (т, J=10.7 Гц, 1H), 3.25 – 3.12 (м, 2H), 3.00 (д, J=4.8 Гц, 3H), 2.97 (с, 3H), 1.76 (д, J=5.2 Гц, 6H).

LCMS1: Rt 4.01 хв.; MS=483.9 [M+H]⁺.

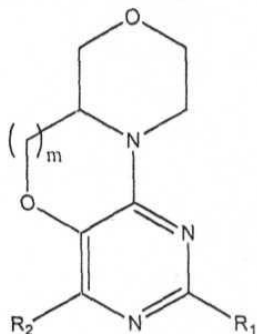
Приклад 114

25 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 8.25 (д, J=4.8 Гц, 1H), 8.05 (д, J=8.3 Гц, 1H), 7.61 (с, 1H), 7.33 (дд, J=8.3, 1.5 Гц, 1H), 4.48 – 4.19 (м, 2H), 4.11 – 3.72 (м, 4H), 3.50 (т, J=10.7 Гц, 1H), 3.30 – 3.14 (м, 2H), 2.97 (д, J=2.9 Гц, 6H), 1.75 (д, J=5.0 Гц, 6H).

LCMS1: Rt 3.78 хв.; MS: 483.9 [M+H]⁺.

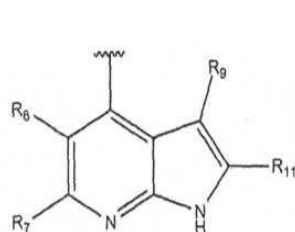
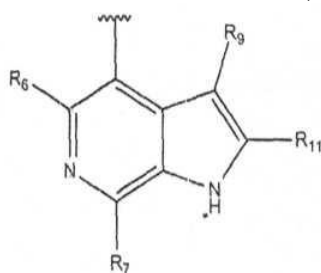
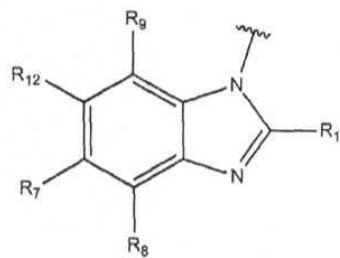
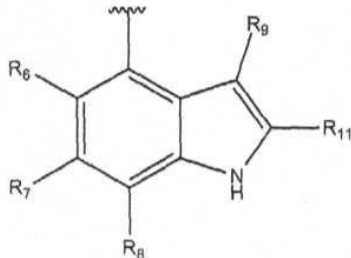
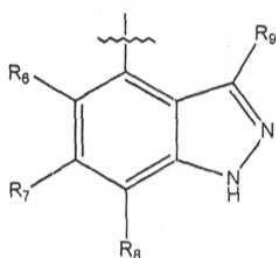
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Хімічна сполука, вибрана з поміж сполук формули (I)



5 , (I)

де
R₁ вибраний з



10 де

R₆ вибраний з поміж атома галогену й H;

R₇, R₈ і R₉ кожний незалежно вибрані з H; атома галогену; CN; R₁₀ і OR₁₀;

де R₁₀ є (C₁-C₆)алкілом, необов'язково заміщеним 1, 2 або 3 атомами галогену;

R₁₁ вибраний з поміж H, R₁₀, NR₄R₄ і NR₄COR₄;

15 де R₄ у кожному випадку незалежно вибраний з поміж H або алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену,

або групи R₄ об'єднані з атомом(ами), до яких вони приєднані, з утворенням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і

R₁₂ вибраний з поміж H, атома галогену, OR₁₀ або R₁₀;

20 R₂ вибраний з поміж NR₃SO₂R₃, алкілу, циклоалкілу, арилу й гетероарилу,

де алкіл і циклоалкіл заміщені щонайменше одним замісником, вибраним з поміж (NR₄)_nSO₂R₄, де n дорівнює 0 або 1, OH і CN; і

де алкіл і циклоалкіл додатково необов'язково заміщені 1 або 2 замісниками, незалежно вибраними з поміж атома галогену, CN, COOR₄, CF₃, (C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1,

25 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і O(C₁-C₆)алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або 2 замісниками біля

одного атома, які об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з формуванням циклічної структури, вибраної, з поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2

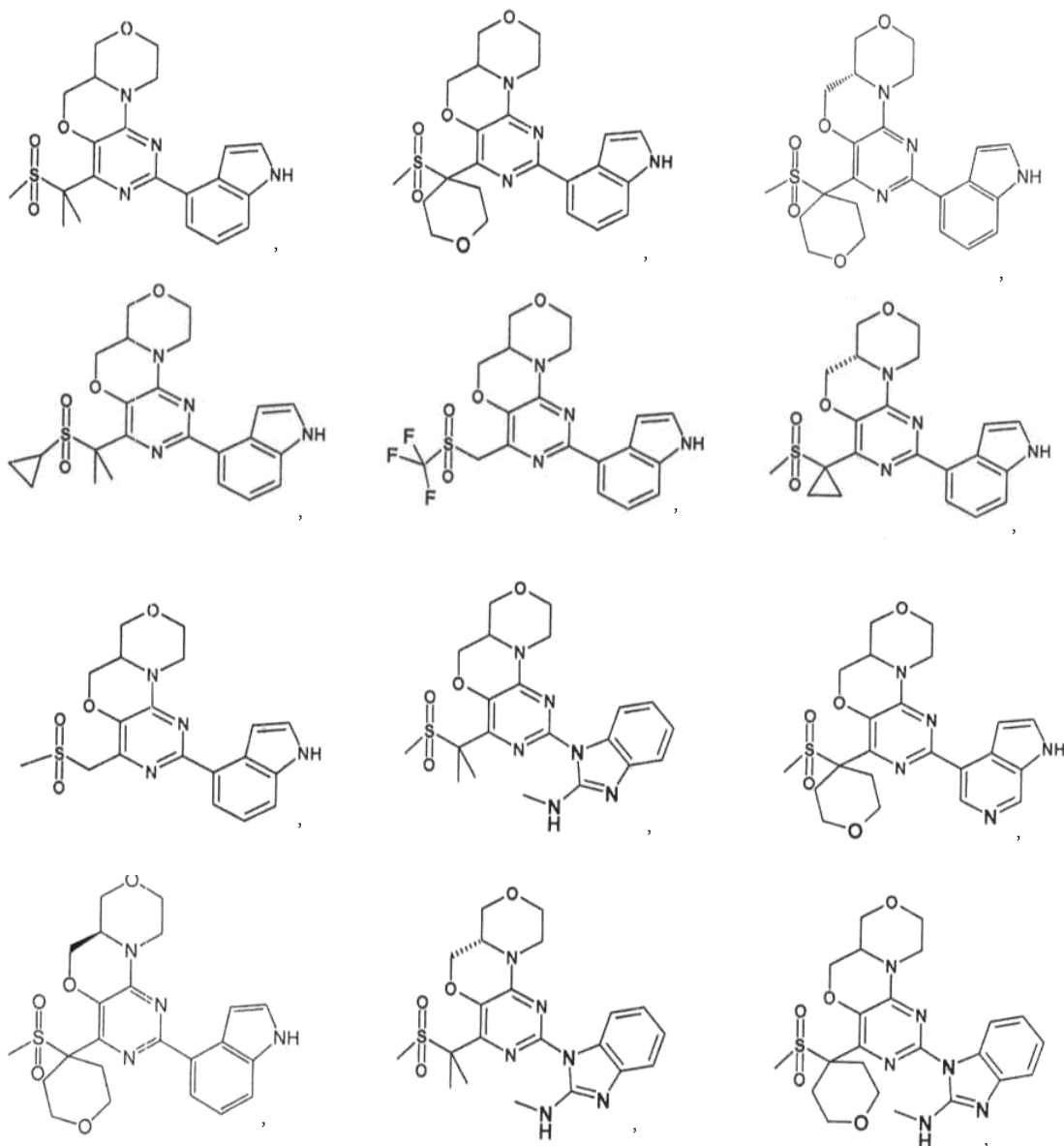
або 3 групами, вибраними з поміж атома галогену, C₁-C₄алкілу, C(O)C₁-C₄алкілу й C(O)O-C₁-C₄алкілу;

30

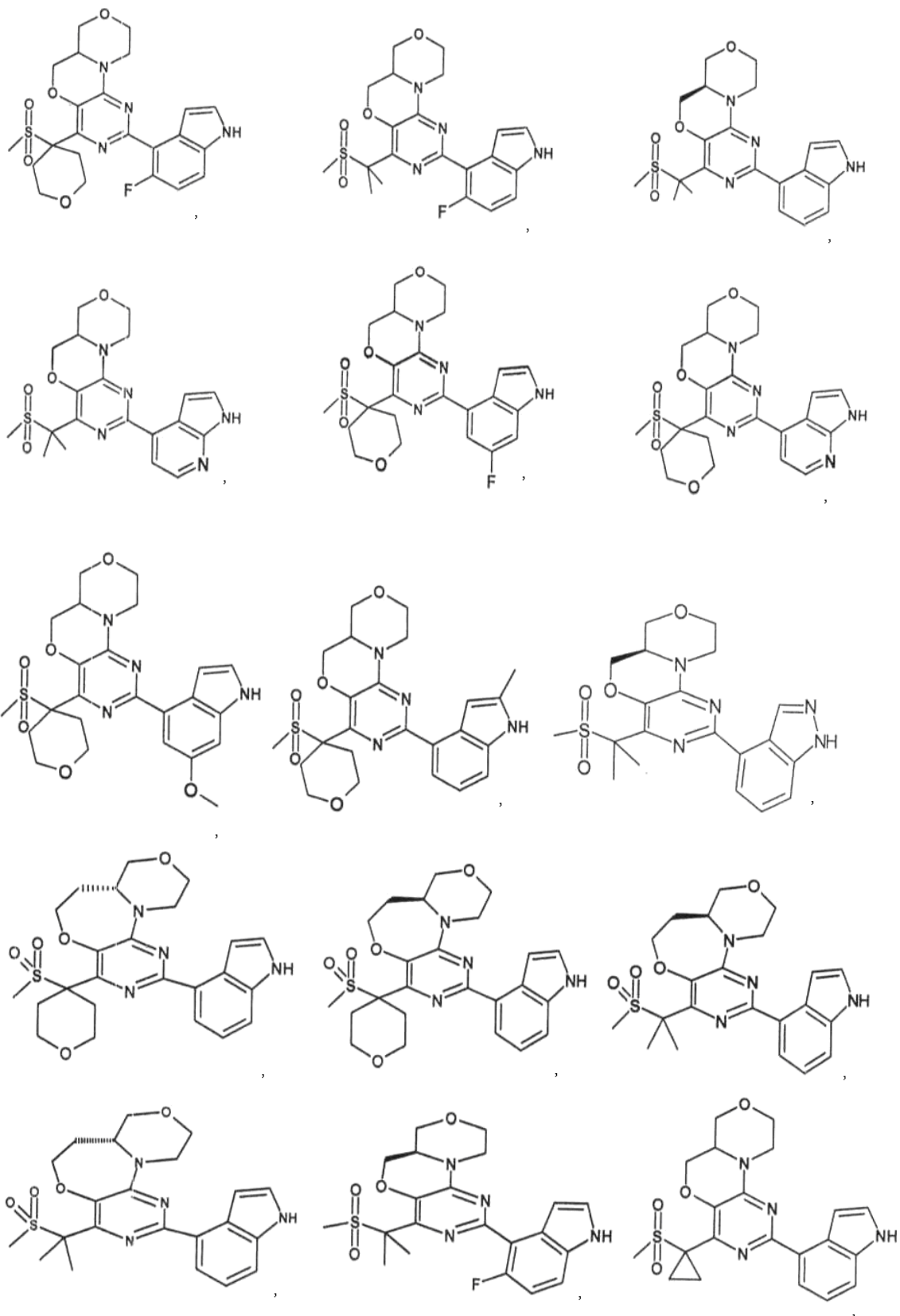
де R_3 у кожному випадку незалежно вибраний з поміж H, алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і
 m дорівнює 1 або 2;

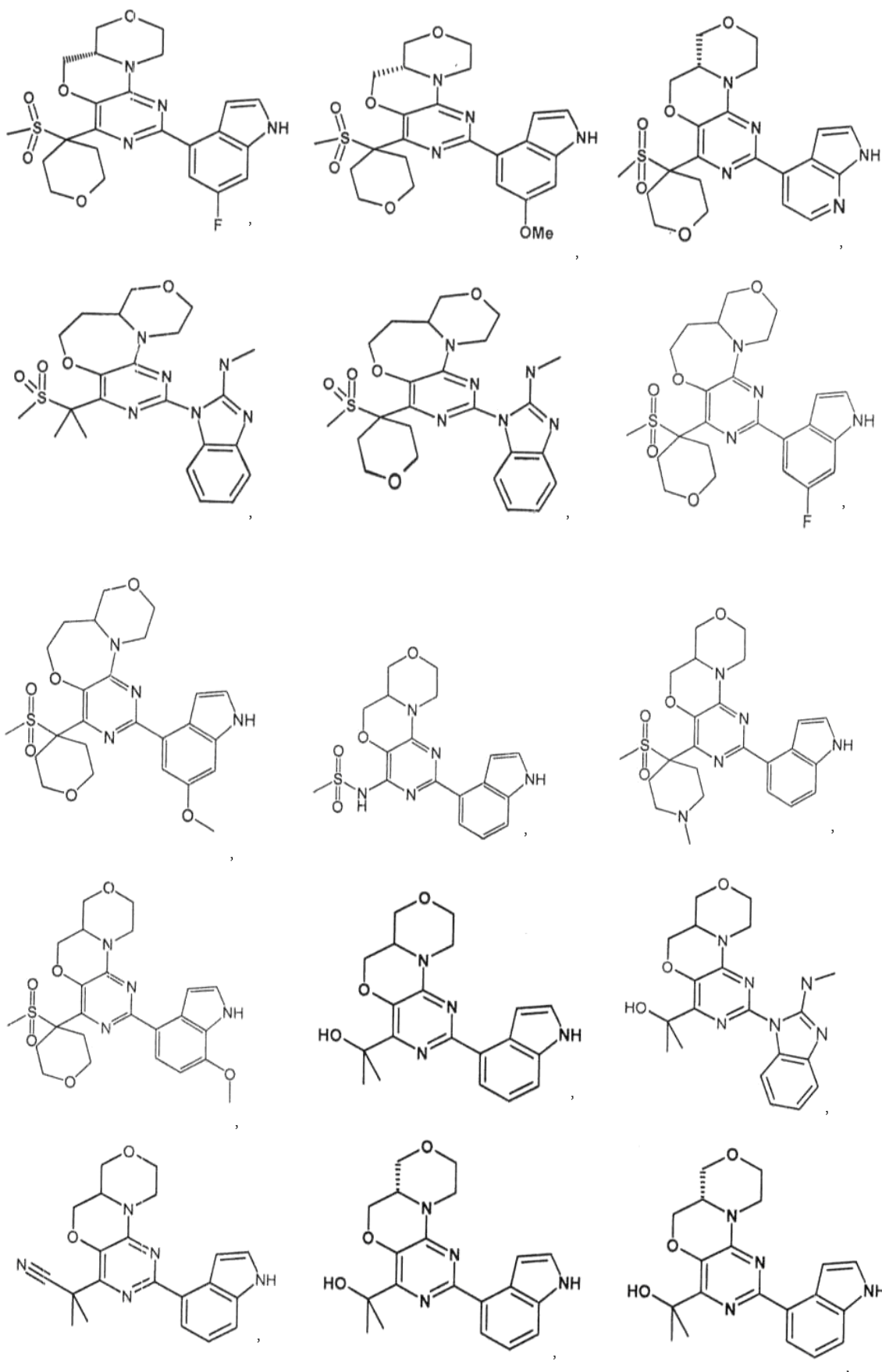
- 5 алкіл є лінійним насиченим вуглеводнем, який містить до 10 атомів вуглецю (C_1 - C_{10}) або розгалуженим насиченим вуглеводнем, який містить 3-10 атомів вуглецю (C_3 - C_{10}); циклоалкіл є моно- або біциклічним насиченим C_3 - C_{10} вуглеводнем, який може бути необов'язково сполучений з арильною групою; або циклоалкіл є адамантилом; гетероциклоалкіл є С-зв'язаним або N-зв'язаним 3-10-членним насиченим моно- або
- 10 біциклічним кільцем, яке містить 1, 2, 3 або 4 гетероатомів у циклі, незалежно вибраних з поміж N, S і O, де атом N або S у циклі може мати як замісник атом кисню, формуючи N-оксидну, сульфоксидну або сульфонову групу; арил є фенілом, біфенілом або нафтилом; і гетероарил є 5, 6, 9 або 10, 12, 13 або 14-членним моно-, бі- або трициклічним ароматичним
- 15 кільцем, яке може містити 1, 2, 3 або 4 гетероатомів у циклі, незалежно вибраних з поміж N, S і O; де коли кожний з R_1 , R_2 і R_3 обраний з поміж алкілу, циклоалкілу, гетероциклоалкілу, арилу й гетероарилу, то
- 20 зазначений алкіл, гетероциклоалкіл і циклоалкіл можуть у кожному випадку бути необов'язково заміщені 1, 2, 3, 4 або 5 замісниками, де зазначені замісники незалежно вибрані з поміж атома галогену, OH, CN, $COOR_4$, CF_3 , NR_4R_4 , NR_4COR_4 , $(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, О-алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену,
- 25 де два замісники біля одного атома можуть бути об'єднані з атомом, до якого вони приєднані, з утворенням циклічної структури, вибраної з поміж циклоалкілу й гетероциклоалкілу, необов'язково заміщених 1, 2 або 3 групами, вибраними з поміж атома галогену, $C(O)C_1$ - C_4 алкілу, $C(O)O$ -(C_1 - C_4 алкіл) і C_1 - C_4 алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену;
- 30 зазначений арил і гетероарил у кожному випадку можуть бути незалежно заміщені 1, 2, 3, 4 або 5 замісниками, незалежно вибраними з поміж атома галогену, OH, CN, $COOR_4$, CF_3 , NR_4R_4 , NR_4COR_4 , $(NR_4)_nSO_2R_4$, де n дорівнює 0 або 1, NHR_5 , алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, О-алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, і гетероциклоалкілу,
- 35 необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; R_4 у кожному випадку незалежно вибраний з поміж H, алкілу, арилу, гетероарилу, циклоалкілу й гетероциклоалкілу, де алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл і гетероциклоалкіл необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, вибраними з поміж атома галогену, алкілу, О-алкілу, $N(C_1$ - C_4 алкіл) $_2$, $N(C_1$ - C_4 алкіл) CO C_1 - C_4 алкілу, або групи R_4 об'єднані з атомом(ами) вуглецю, до яких
- 40 вони приєднані, з утворенням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або, коли замісник, який є групою R_4 , присутній в алкілі, циклоалкілі або гетероциклоалкілі, група R_4 може бути об'єднана із замісником у цьому алкілі, циклоалкілі або гетероциклоалкілі з формуванням гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену; і
- 45 R_5 незалежно вибраний з поміж CO алкілу, CO арилу або CO гетероарилу і його фармацевтично прийнятні солі, сольвати й стереоізомери.
2. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що R_6 вибраний з поміж H і атома галогену; R_7 , R_8 і R_9 вибрані з поміж H, атома галогену, CN, $O(C_1$ - $C_6)$ алкілу й $(C_1$ - $C_6)$ алкілу, необов'язково
- 50 заміщеного одним або більше атомами галогену; R_{11} вибраний з поміж H, $(C_1$ - $C_6)$ алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 ; і R_{12} вибраний з поміж H, атома галогену, $(C_1$ - $C_6)$ алкілу й $O(C_1$ - $C_6)$ алкілу.
3. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що R_6 , R_7 , R_8 , R_9 і R_{12} є H; і R_{11} вибраний з поміж $(C_1$ - $C_6)$ алкілу, NR_4R_4 і NR_4COR_4 .
- 55 4. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що R_6 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} є H; і R_7 вибраний з поміж атома галогену, CN, $O(C_1$ - $C_6)$ алкілу й $(C_1$ - $C_6)$ алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену.
5. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{11} і R_{12} є H.
6. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що R_2 є $(CH_2)_pC(R_{13})_2(CH_2)_qQ$, де Q є $(NR_4)_nSO_2R_4$, OH або CN, де p і q незалежно дорівнюють 0, 1 або 2, де
- 60

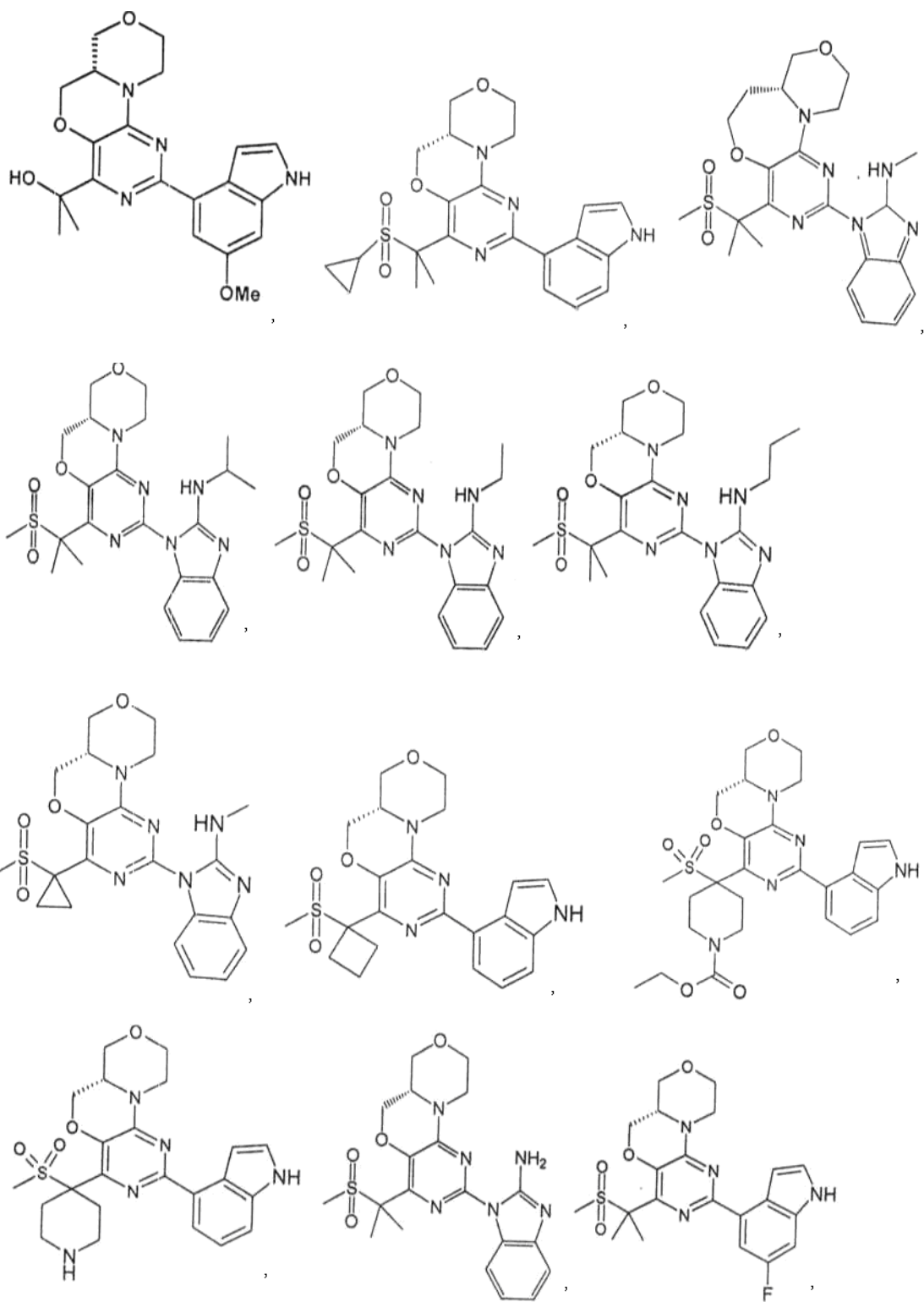
- (i) R_{13} у кожному випадкові незалежно вибраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄) алкілу, або
(ii) один R_{13} вибраний із групи, яка складається з H і (C₁-C₄) алкілу, або інший R_{13} об'єднаний з R_4 , у випадку його наявності, з формуванням 3-6-членного гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 атомами галогену, або
5 (iii) групи R_{13} об'єднані з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, з утворенням циклічної структури, вибраної з поміж (C₃-C₆) циклоалкілу й 3-6-членного гетероциклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 групами, вибраними з поміж атома галогену, C₁-C₄ алкілу, C(O)C₁-C₄ алкілу й C(O)O-C₁-C₄ алкілу.
10 7. Хімічна сполука за п. 6, яка **відрізняється** тим, що обидві групи R_{13} є H, де обидві групи R_{13} є метилом або де групи R_{13} об'єднані з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, з утворенням циклопропанілу, циклобутилу, тетрагідропіранілу, піперидинілу, N-етоксикарбонілпіперидинілу або N-метилпіперидинілу.
8. Хімічна сполука за п. 7, яка **відрізняється** тим, що Q є SO₂R₄.
15 9. Хімічна сполука за будь-яким з попередніх пунктів яка **відрізняється** тим, що коли m дорівнює 1, то хіральний центр у хімічній сполуці формули (I) має (S)-конфігурацію, а коли m дорівнює 2, то хіральний центр у хімічній сполуці формули (I) має (R)-конфігурацію.
10. Хімічна сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що її вибрано із групи, яка складається з:

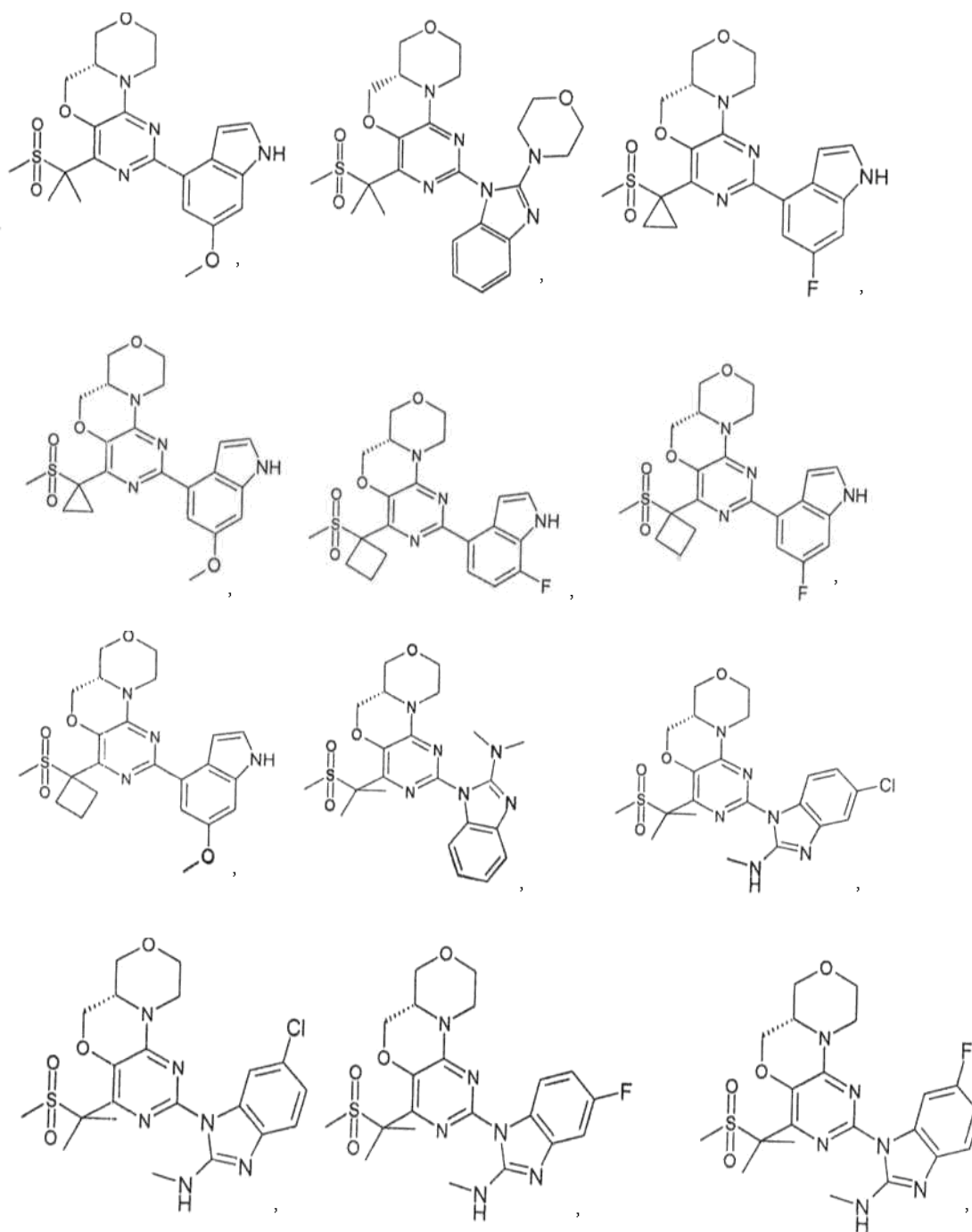


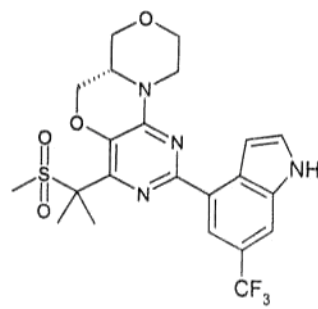
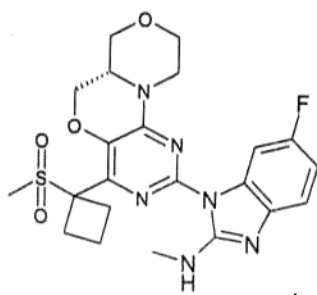
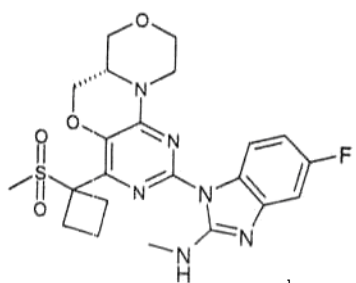
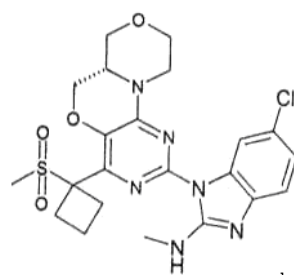
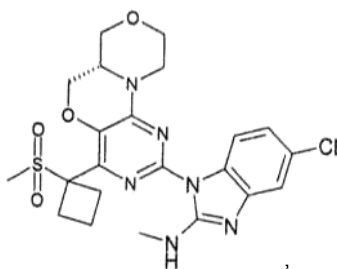
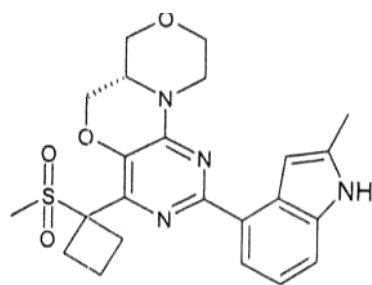
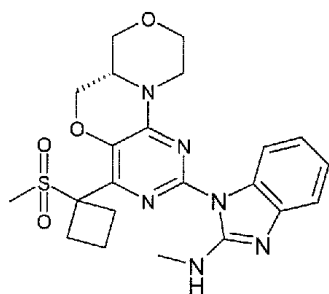
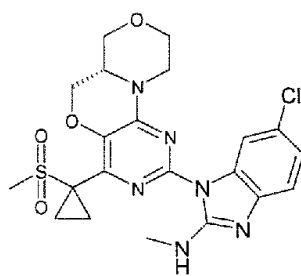
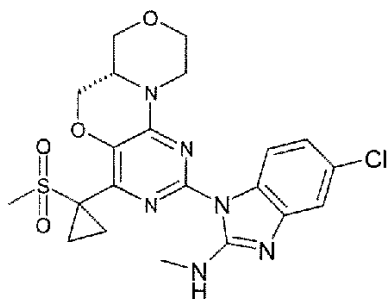
20



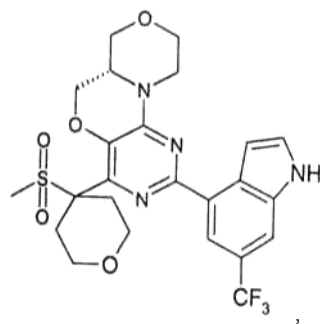
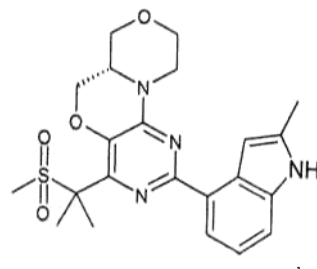
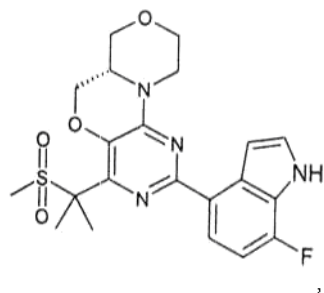


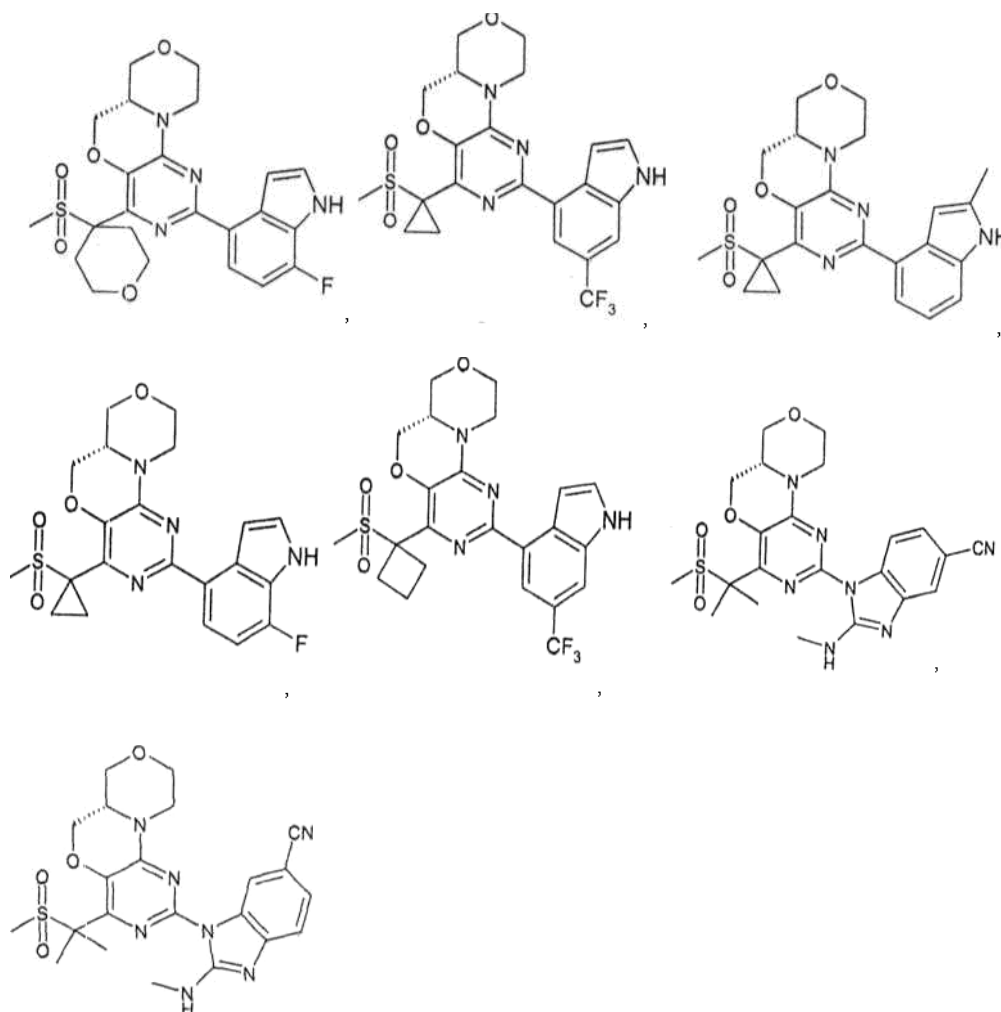




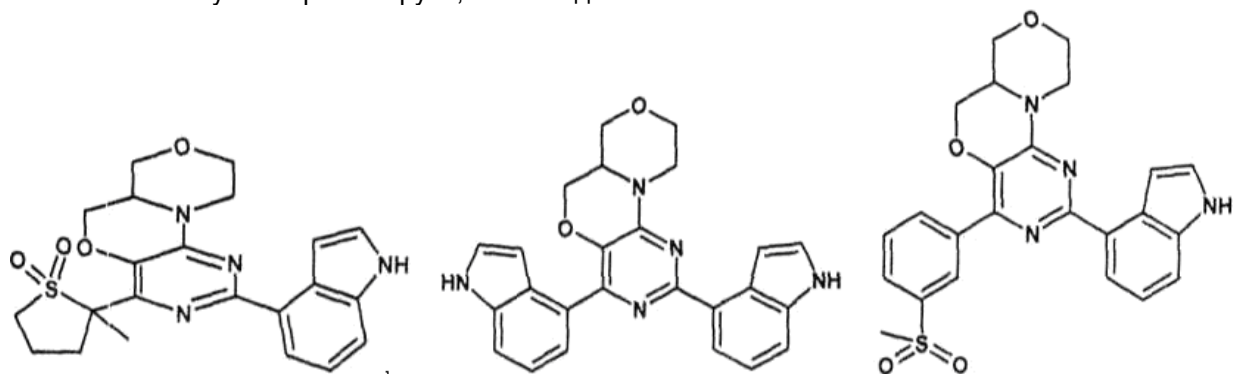


5





- 5 та його фармацевтично прийнятні солі, сольвати й стереоізомери.
11. Хімічна сполука вибрана з групи, яка складається з:



12. Фармацевтична композиція, яка включає хімічну сполуку за кожним з пунктів 1-11 і
10 фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.
13. Хімічна сполука за кожним з пунктів 1-11 для застосування в медицині.
14. Спосіб лікування захворювання або стану, при якому задіяна активність ATR, який
передбачає введення пацієнтові, який потребує такого лікування, терапевтично ефективної
кількості хімічної сполуки за кожним з пунктів 1-11.
15
15. Хімічна сполука за кожним з пунктів 1-11 для застосування в способі лікування
захворювання або стану, у яких задіяна активність ATR.
16. Застосування хімічної сполуки за кожним з пунктів 1-11 для виготовлення лікарського засобу
для лікування захворювання або стану, у яких задіяна активність ATR.

17. Спосіб за п. 14, хімічна сполука за п. 15 або застосування за п. 16, де захворювання або стан, у яких задіяна активність ATR, є захворюванням або станом, пов'язаним з посиленою проліферацією, таким як рак.

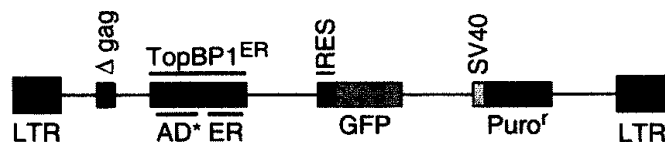
18. Спосіб або хімічна сполука за п. 17, які **відрізняються** тим, що захворювання або стан, у якому задіяна активність ATR, є раком ендометрія, раком товстої кишки або раком шлунка.

19. Комбінований продукт, який містить:

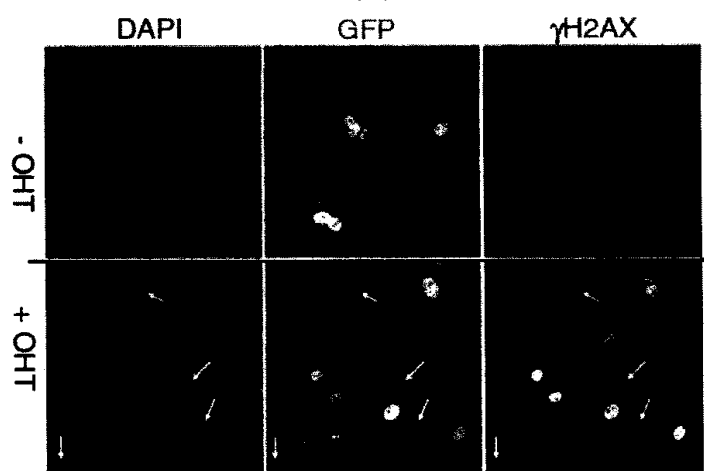
(А) хімічну сполуку за кожним з пунктів 1-11; і

(В) інший терапевтичний засіб, який може застосовуватися в лікуванні ракових захворювань і/або проліферативного захворювання,

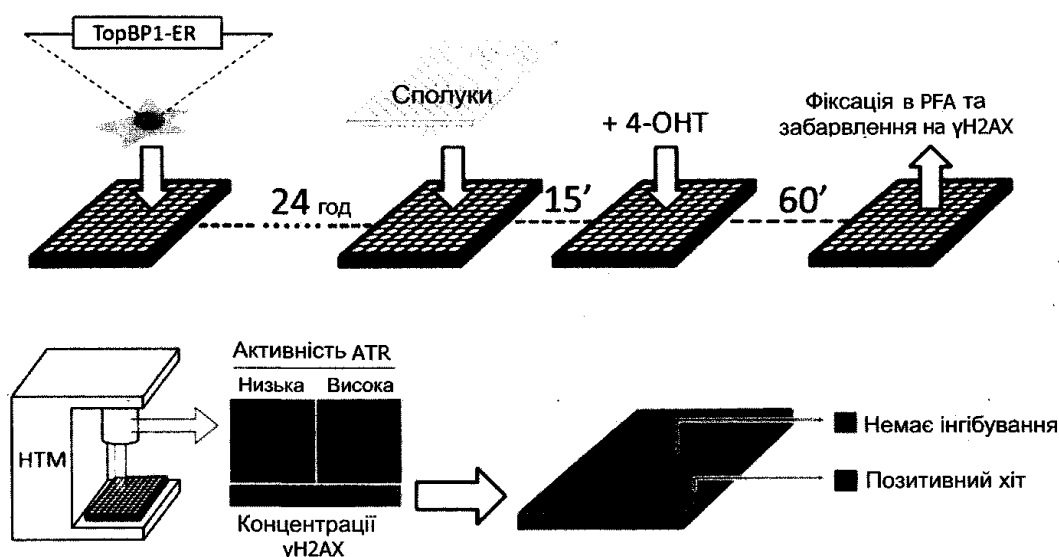
де кожний з компонентів (А) і (В) входить до складу в суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм.



Фіг. 1(А)



Фіг. 1(В)



Фіг. 1(С)



+ ОНТ
Фіг. 1(D)

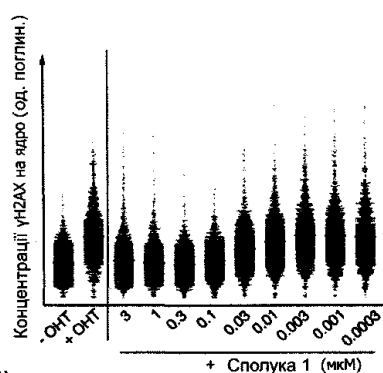
+ Інгібітори АТР

Сполука 1

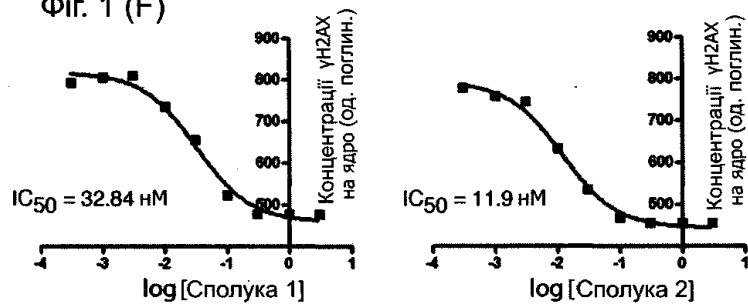
Сполука 2

512 329	492 926	507 085	530 484	681 496	788 838	788 838	788 838	788 838
512 920	516 917	489 196	519 721	631 445	723 803	788 838	772 111	788 838
527 376	500 920	484 923	474 547	596 076	625 212	788 838	781 888	788 838
552 665	492 291	442 570	465 921	532 137	638 037	788 838	781 870	781 856

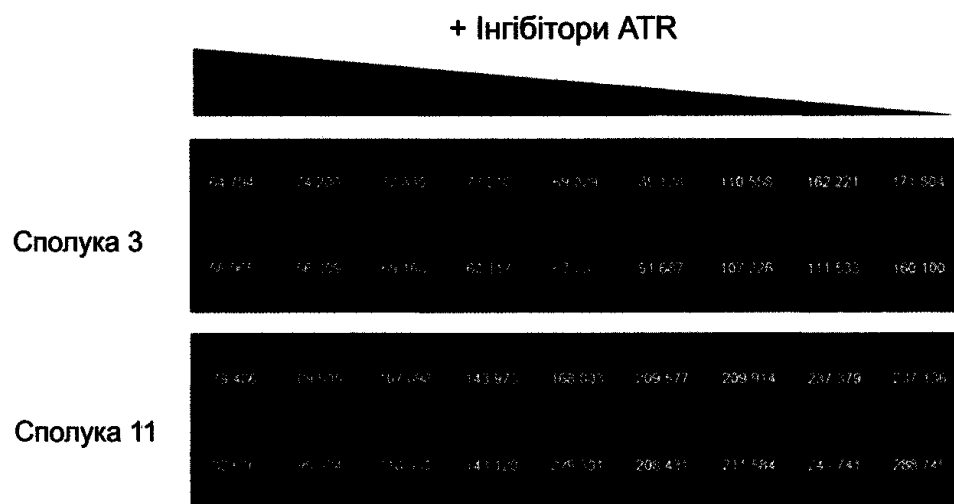
Фіг. 1 (E)



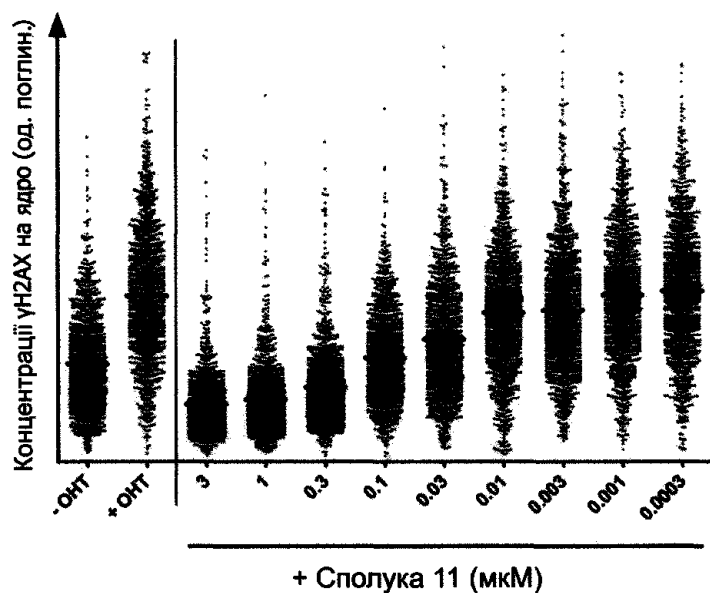
Фіг. 1 (F)



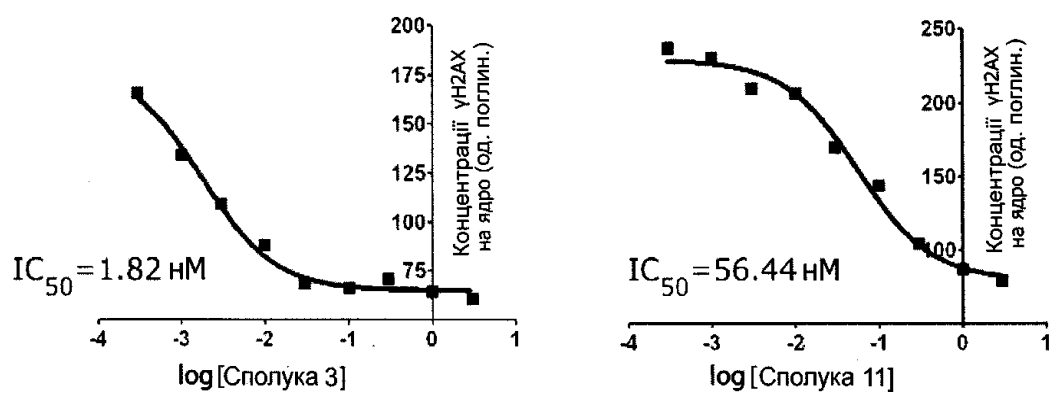
Фіг. 1(G)



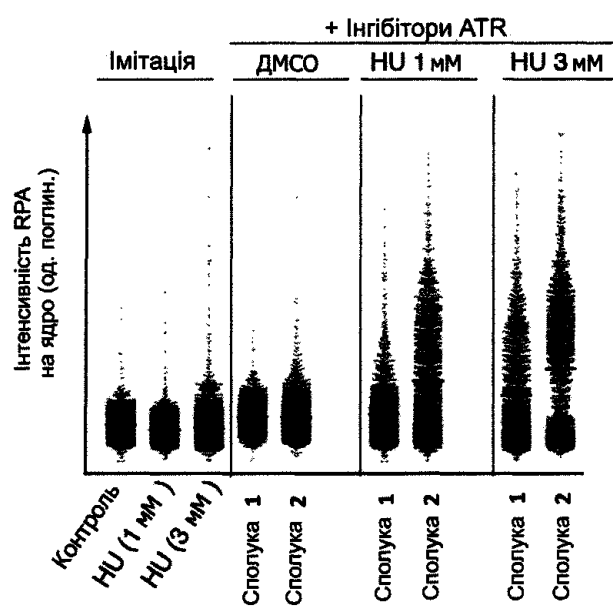
Фіг. 1(Н)



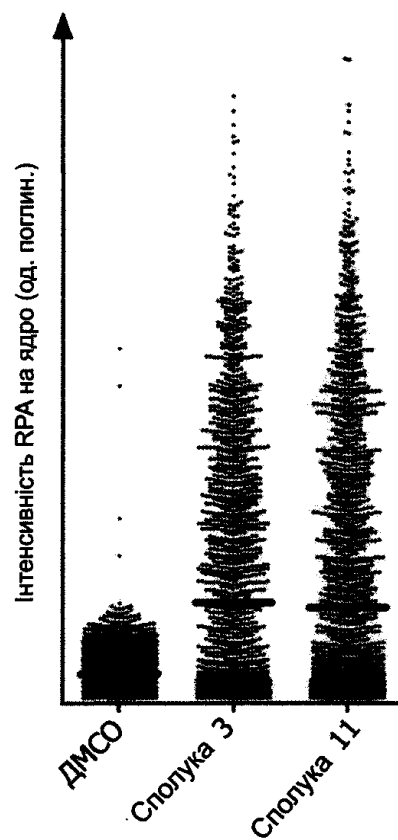
Фіг. 1(І)



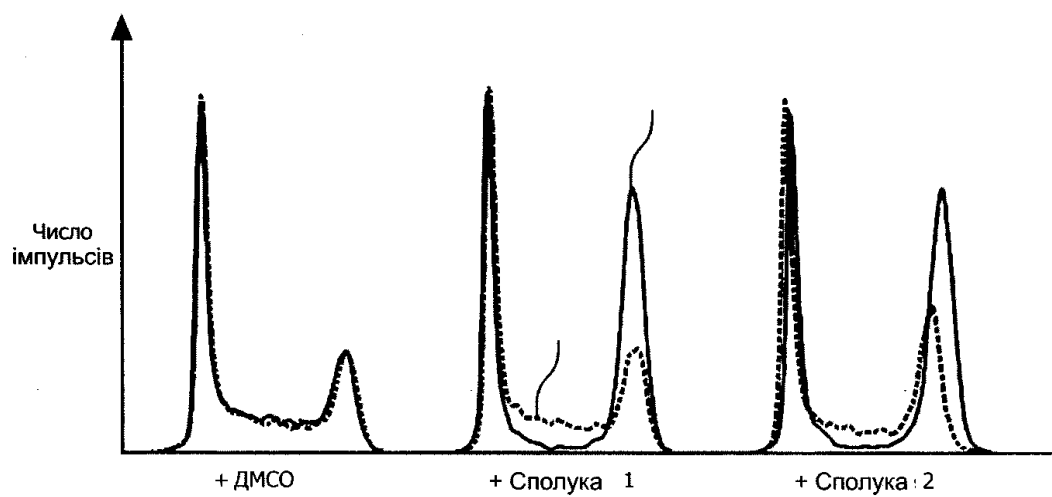
Фіг. 1(К)



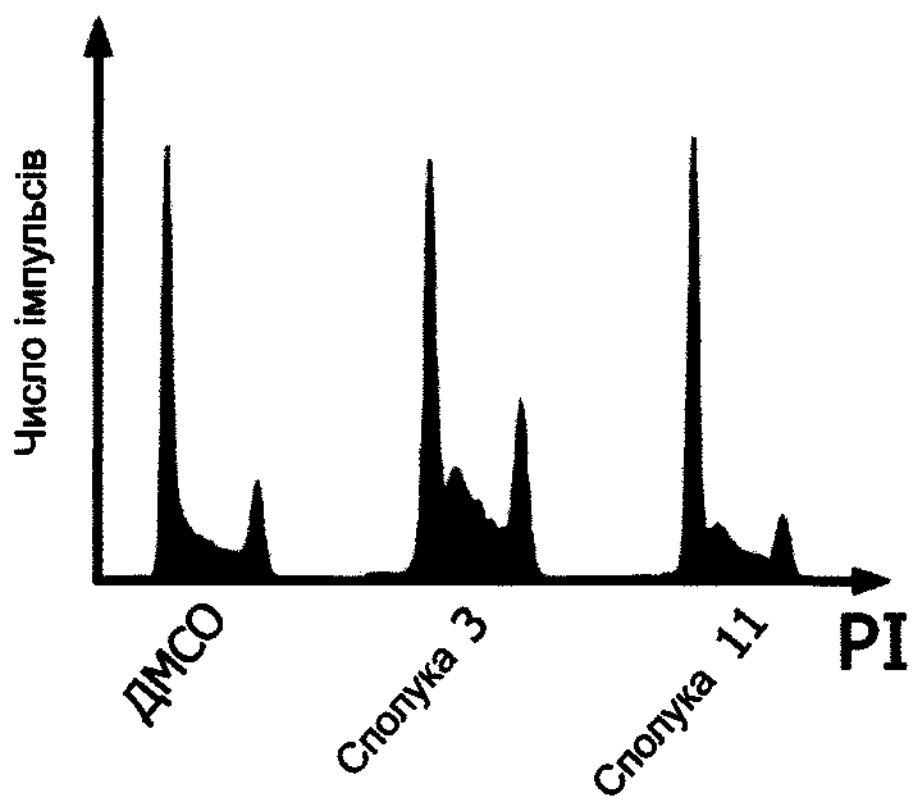
Фіг. 2(А)



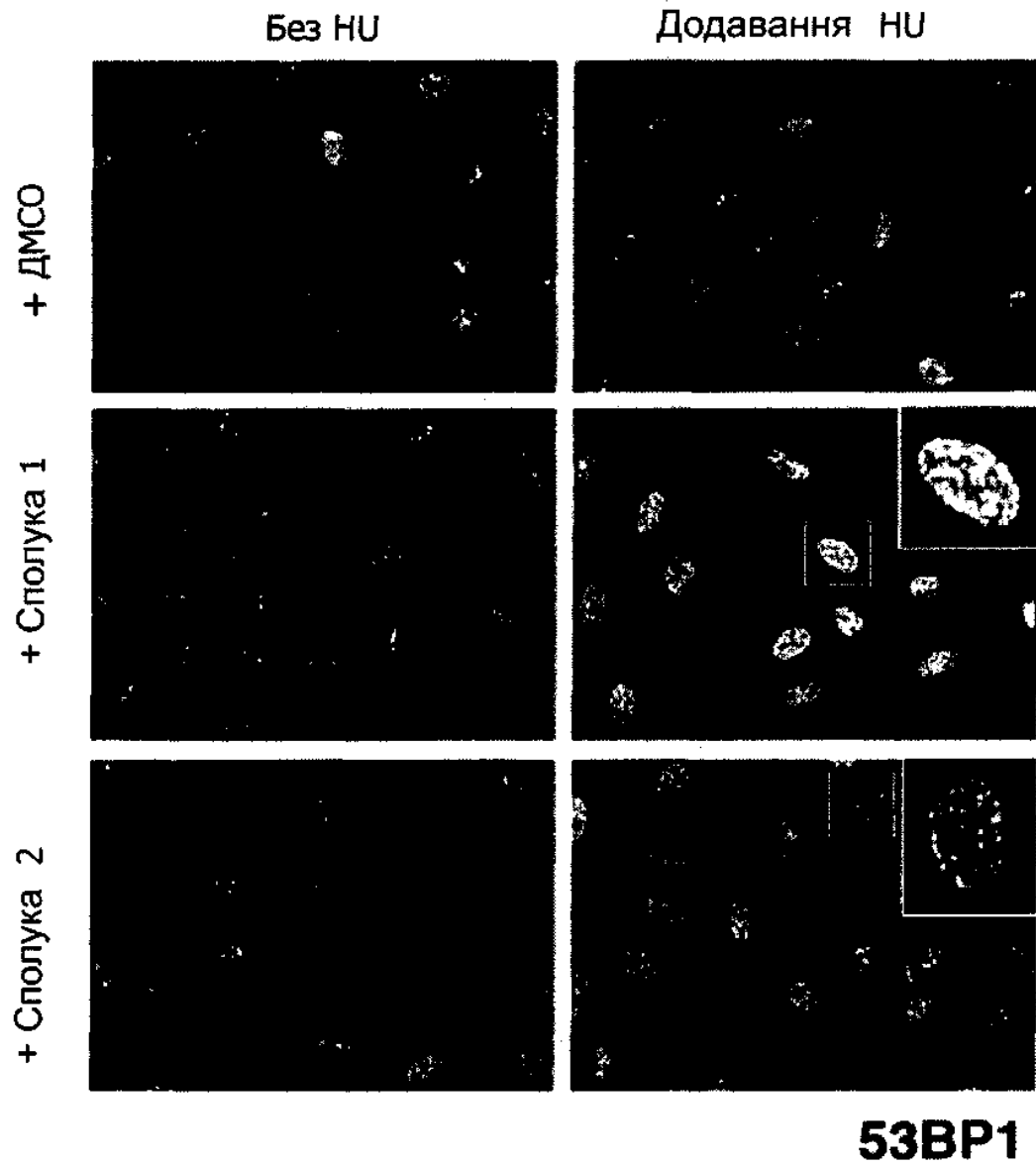
Фіг. 2 (В)



Фіг. 3 (А)



Фіг. 3(В)



Фіг. 4(А)

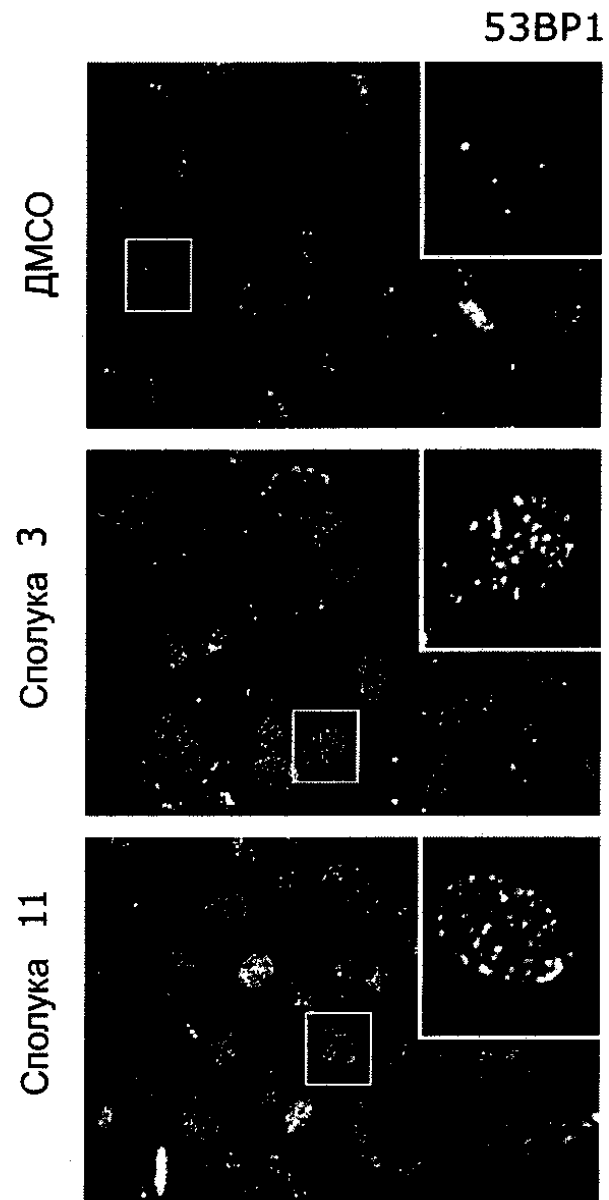
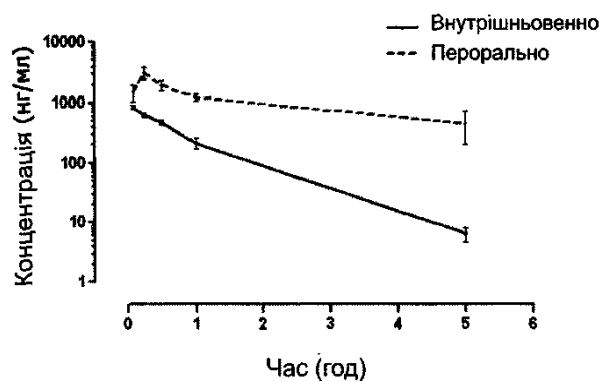


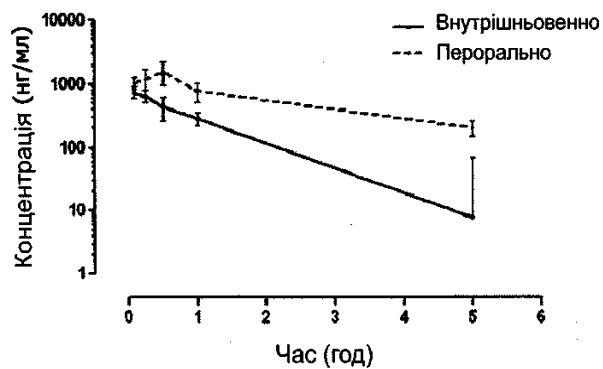
Fig. 4(B)

Параметр	Внутрішньовенно	Перорально
F (%)	-	55.01
C _{макс} (нг/мл)	-	3174.48
T _{макс} (год)	-	0.25
AUC остання (год*нг/мл)	958.88	5284.84
T _{1/2} (год)	0.75	-
Cl (л/год/кг)	1.04	-
Vd (л/кг)	0.78	-
MRT (год)	0.75	3.18

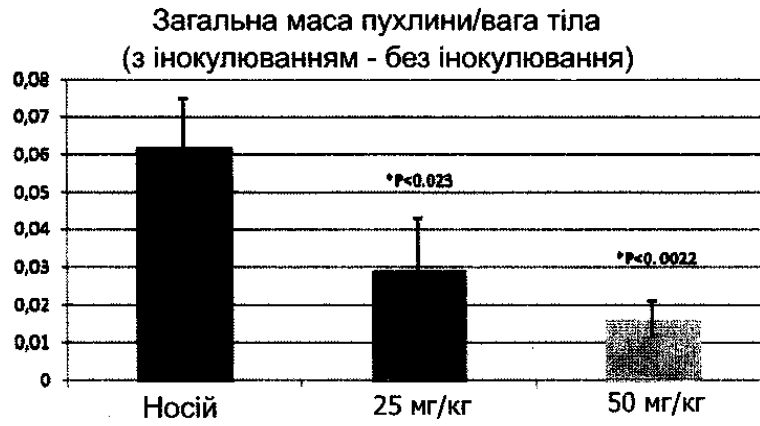


Фіг. 5

Параметр	Внутривенно	Перорально
F (%)		28.87
C _{макс} (нг/мл)		1567.45
T _{макс} (год)		0.50
AUC остання (год*нг/мл)	1095.71	3141.51
T _{1/2} (год)	0.77	-
Cl (л/год/кг)	0.90	-
Vd (л/кг)	0.74	-
MRT (год)	0.82	2.24

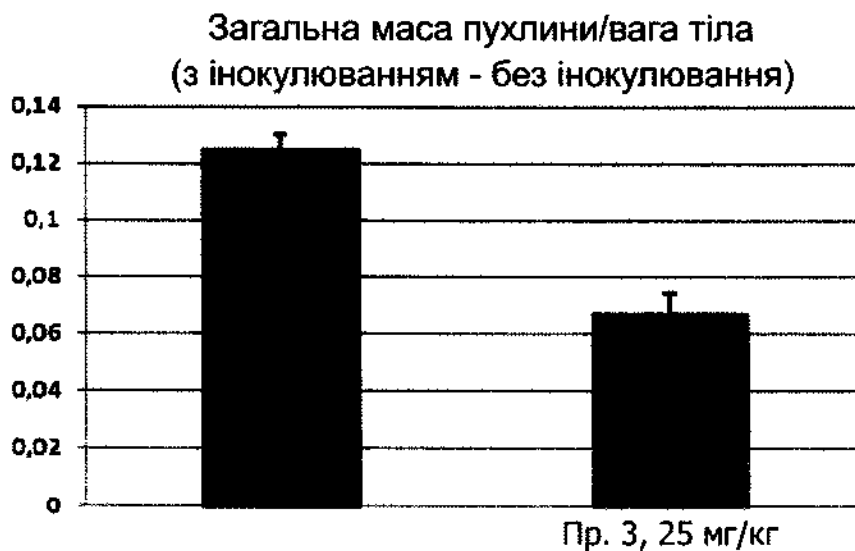
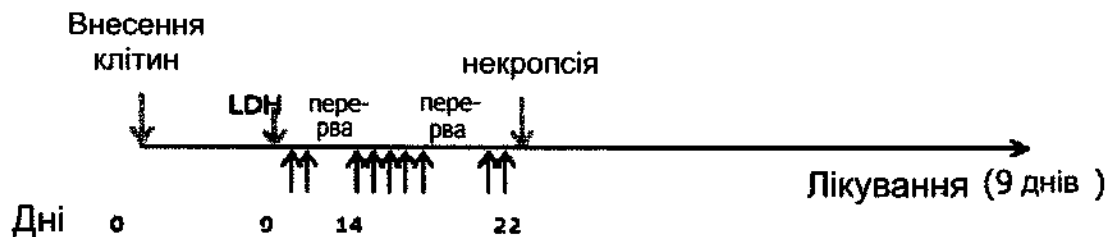


Фіг. 6



	TGI (%)
25 мг/кг	53,23
50 мг/кг	74,19

Фіг. 7



	TGI (%)
Пр. 3, 25 мг/кг	46.06

Фіг. 8