



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2014.01.30

(21) Номер заявки
201070912

(22) Дата подачи заявки
2009.01.30

(51) Int. Cl. C07D 239/84 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ОКСИМА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ HSP90

(31) 61/025,725; 61/101,595

(32) 2008.02.01; 2008.09.30

(33) US

(43) 2011.08.30

(86) PCT/US2009/032728

(87) WO 2009/097578 2009.08.06

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)

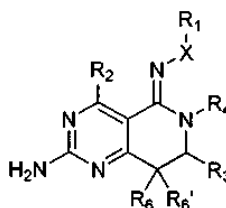
(72) Изобретатель:
Чэнь Юн К., Ко Эрик Ван,
Гунтупалли Прасуна, Лосон Джон
Дэвид, Нотц Вольфганг Райнхард
Людвиг, Стаффорд Джефффри А., Тон-
Ну Хуонг-Тху (US)

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

(56) WO-A-2007/041362
WO-A-2006113498
WO-A-03051844

IKUINA Y. ET AL.: "Synthesis and antitumor activity of novel O-carbamoylmethyloxime derivatives of radicicol", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON.; US, vol. 46, no. 12, 1 January 2003 (2003-01-01), pages 2534-2541, XP002975841, ISSN: 0022-2623, the whole document
WO-A-2008142720

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям, ингибирующим HSP90, имеющим формулу



где X представляет собой O; R₁ представляет собой -L-R₄₅; R₂ выбран из группы, включающей водород и метил; R₃ и R₁₂ выбраны из группы, определенной в п.1 формулы изобретения; R₄ представляет собой водород; R₆ и R_{6'}, оба, представляют водород; R₄₅ выбран из группы, включающей водород, amino и гидроксил; L представляет собой (-CR₄₆R₄₇-)_n; n равно 1, 2, 3, 4 или 5; R₄₆ и R₄₇, каждый, независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, amino, (C₁₋₆)алкил и гидроксис(C₁₋₆)алкил. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям и способам использования таких соединений.

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям, пригодным для ингибирования белка теплового шока 90 (HSP90), а также к композициям, наборам и изделиям, включающим такие соединения. Настоящее изобретение также относится к способам ингибирования HSP90 и способам лечения с использованием соединений согласно настоящему изобретению. Дополнительно, настоящее изобретение относится к способам получения соединений согласно настоящему изобретению, а также к промежуточным соединениям, которые можно применять в таких способах. В частности, настоящее изобретение относится к ингибиторам HSP90, композициям, наборам и изделиям, включающим такие соединения, способам ингибирования HSP90, а также способам и промежуточным соединениям для получения таких ингибиторов.

Уровень техники

Молекулярные шапероны поддерживают надлежащее свертывание и конформацию образующихся полипептидов. Данная активность критична для регуляции баланса между синтезом и разрушением белка. В случае повреждения белка молекулярные шапероны могут также способствовать повторному сворачиванию или, в случае необратимого повреждения белка, уничтожению такого белка клеточным механизмом разрушения белка¹.

Белки теплового шока (HSP) первоначально определяли по повышенной экспрессии в ответ на воздействие различных повреждающих клетку факторов, таких как повышенная температура, а также воздействие тяжелых металлов и окислительный стресс¹. Большинство, но не все HSP представляют собой молекулярные шапероны, которые делят на семейства в соответствии с размером молекул и функцией, включая HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 и малые HSP. Быструю индукцию экспрессии гена HSP называют реакцией теплового шока (HSR), которая обеспечивает цитопroteкцию при повторном воздействии повреждающего фактора, которое в противном случае вызвало бы летальное повреждение молекул. Цитопroteкция является примером повышенной экспрессии молекулярного шаперона, связанной с функционированием нормальных клеток в организме. Однако абберантная экспрессия белков данного семейства может также быть связана с некоторыми болезненными состояниями.

Существуют многочисленные свидетельства в пользу того, что молекулярные шапероны имеют значение для поддержания ракового фенотипа. Дополнительно, накапливающиеся свидетельства связи экспрессии молекулярных шаперонов с другими заболеваниями, включая, без ограничения, нейродегенеративные заболевания, включая болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона и прионные заболевания, воспаление и заболевания, связанные с воспалением, такие как боль, головные боли, лихорадка, артрит, астма, бронхит, тендинит, экзема, воспалительное заболевание кишечника и т.д., заболевания, зависящие от ангиогенеза, такие как рак, артрит, диабетическая ретинопатия, старческая дегенерация желтого пятна (AMD) и инфекционные заболевания, в частности грибковые инфекции, вирусные заболевания, включая, но не ограничиваясь перечисленными, заболевания, вызываемые вирусом гепатита В (HBV), вирусом гепатита С (HCV) и простым вирусом герпеса типа 1 (HSV-1), заболевания сердечно-сосудистой и центральной нервной системы^{3, 4, 5, 6, 7}.

HSP90 представляет собой распространенный молекулярный шаперон, который составляет 1-2% общего белка клетки. Он осуществляет свою функцию шаперона, обеспечивая правильную конформацию, активность, локализацию внутри клетки и протеолитический оборот ряда белков, которые участвуют в росте, дифференцировке и выживании клеток^{3, 5, 8}. Поскольку было показано, что HSP90 ассоциирует с большим количеством важных сигнальных белков и способствует их стабилизации (такие белки обычно называют клиентами HSP90), существует логическое обоснование терапевтического применения ингибиторов HSP90 для лечения разнообразных заболеваний человека (как описано выше)⁹. Активность HSP90 необходима для стабилизации и функционирования многих онкогенных белков-клиентов, которые вносят свой вклад во все основные характеристики злокачественных процессов и соответственно HSP90 является широко признанной мишенью терапии при лечении рака^{3, 4, 5, 8}. Такие белки-клиенты включают, среди прочих, BCR-ABL, AKT/PKB, C-RAF, CDK4, рецепторы стероидных гормонов (эстрогена и андрогена), белки выживания, c-Met, HER-2 и теломеразы. Ингибирование функции HSP90 приводит к дестабилизации и разрушению белков-клиентов по убиквитин-протеасомному пути, что приводит к ослаблению сигналов, которые распространяются по онкогенным сигнальным путям и модулирования всех аспектов злокачественного фенотипа^{3, 5, 8}. Соответственно ингибиторы HSP90 обладают потенциалом для лечения рака, зависящего от разнообразных молекулярных аномалий и их совместное действие может также снижать способность к развитию устойчивости.

Считают, что HSP90 осуществляет функцию шаперона в цикле, включающем координированные взаимодействия ряда белков, действующих совместно с шаперонами, которые вместе вовлечены в хорошо контролируемое, взаимно регулируемое взаимодействие с обменом АТФ/АДФ и гидролизом АТФ характерным и необходимым N-концевым АРФ-азным доменом. Кристаллографические исследования выявили, что некоторые ингибиторы HSP90 занимают N-концевой сайт связывания АТФ¹⁰, что приводит к ингибированию АТФазной активности и функции HSP90.

Вначале для 14-членного макроциклического антибиотика радицикола была продемонстрирована противоопухолевая активность *in vitro*, а также было показано, что он обращает злокачественный фенотип клеток, трансформированных v-SRC¹¹. Впоследствии было с использованием рентгеновской кри-

сталлографии было показано, что радицикол связывается с N-концевым АТФ-связывающим карманом HSP90 с высокой аффинностью¹⁰ и ингибирует АТФазную активность HSP90, что приводит к разрушению ряда сигнальных белков¹². Хотя радицикол подавляет рост опухолей *in vitro*, он не обладает активностью *in vivo*, наиболее вероятно, из-за наличия реактивной эпоксидной группы и других нежелательных химических особенностей, которые обуславливают нестабильность и возможную токсичность^{8, 13}.

Бензохинон ансамицины являются вторым классом природных антибиотиков, для которых было продемонстрировано ингибирование активности HSP90. Первым примером является гелданамицин, который также конкурирует с АТФ за связывание с N-концевым сайтом связывания нуклеотидов HSP90¹⁴. Также как в случае с радициколом, несмотря на многообещающую противоопухолевую активность *in vitro* (и *in vivo*), разработка средства для лечения людей на основе гелданамицина была прекращена из-за нестабильности и неприемлемой гепатотоксичности данного соединения в терапевтических дозах¹⁵.

С целью обнаружения средств с расширенными пределами безопасности для клинического применения, исследовали аналоги гелданамицина, включая производное 17-аллиламино-17-деметоксигелданамицин (17-AAG или танеспимицин)¹⁶. 17-AAG оказывает воздействием на клетки, подобное действию гелданамицина, включая разрушение белков-клиентов и блокирование клеточного цикла, но обладает повышенной метаболической стабильностью и более низкой токсичностью^{5, 8}. Доклинические исследования с использованием 17-AAG продемонстрировали высокую эффективность этого производного *in vitro*, а также его противоопухолевую активность в нетоксичных дозах в различных моделях с ксенографтами опухолей человека^{17, 18}. На основании биологической активности 17-AAG недавно прошел фазу I клинических испытаний с некоторыми обнадеживающими результатами^{9, 19}. В результате, к настоящему времени 17-AAG вступил во II фазу клинических испытаний в виде монотерапии для различных типов опухолей, включая меланому и рак груди.

Существует несколько возможных факторов, которые могут снижать клиническую эффективность 17-AAG. Доклинические испытания показали, что метаболизм 17-AAG в печени под действием цитохрома P450 приводит к образованию 17-амино-17-деметоксигелданамицина (17-AG)¹⁷. Хотя 17-AG сохраняет ингибирующую активность, метаболизм под действием CYP3A4, вероятно, вызывает изменения в фармакокинетике. Кроме того, активность 17-AAG повышается в результате его перехода в форму гидрохинона, 17-AAGH₂, под действием фермента-редуктазы NQO1 или DT-диафоразы^{17, 20}. Полиморфная экспрессия обоих указанных метаболических ферментов, возможно, накладывает ограничения на клиническое применение 17-AAG в популяции^{5, 8, 17}. Эффективность 17-AAG, возможно, также снижается его ассоциацией с белком множественной устойчивости к лекарствам MDR1 или Р-гликопротеином. Наконец, ограничения 17-AAG связаны с его низкой растворимостью, громоздкой и сложной конформацией и отсутствием биодоступности при пероральном введении. Попытки получить другую форму 17-AAG привели к началу клинических испытаний с CNF1010 и составом на основе кремафора (KOS-953), причем последний показал многообещающие результаты у пациентов с рецидивирующей рефрактерной миеломой. Национальный институт рака США и Kosan Biosciences также разработали более водорастворимый аналог 17-AAG, 17-диметиламиноэтиламино-17-деметоксигелданамицин (17-DMAG) или алвеспимицин (alvespimycin), который оценивали в доклинических и клинических испытаниях⁹. 17-AAGH₂, также известный как IPI-504, также вступил в клинические испытания в виде растворимого производного 17-AAG²¹.

Недавно были описаны неприродные продукты, являющиеся ингибиторами HSP90. Один из таких продуктов содержит каркас 3,4-диарилпиразол резорцинола. Примерами таких молекул являются соединения CCT018159 и аналоги CCT0129397/VER-49009 и VER-50589. Обработка раковых клеток такими ингибиторами HSP90 вызвала индукцию HSP70, снижение количества белков-клиентов и апоптоз^{22, 23, 24, 25}.

Chiosis et al.²⁶ с использованием метода рациональной разработки лекарственных средств разработали новый класс ингибиторов HSP90 с пуриновым каркасом. Первое идентифицированное соединение из этого ряда, PU3, связывало HSP90 с умеренной аффинностью, вызывая клеточные эффекты, характерные для ингибиторов HSP90. Важным свойством PU3 является то, что он более растворим, чем 17-AAG; однако его эффективность в отношении клеток значительно ниже, чем у ансамицина²⁶. Дальнейшие усилия, направленные на повышение эффективности PU3, привели к идентификации PU24FCI²⁷. Это соединение оказывало биологическое воздействие на клетку в диапазоне концентраций 2-6 мкМ²⁷ и также продемонстрировало в 10-50 раз более высокую аффинность к HSP90 из трансформированных клеток, чем к HSP90 из нормальных тканей²⁷. Применение PU24FCI в моделях с ксенографтами опухоли молочной железы человека обеспечило противоопухолевую активность без значительной токсичности²⁷. В более поздних исследованиях были идентифицированы производные PU 8-арилсульфанил, 8-арилсульфоксил и 8-арилсульфонил аденин, которые проявляли повышенную растворимость в воду и эффективность примерно 50 нМ в клеточных моделях, а также терапевтическую активность в моделях с ксенографтами опухолей человека²⁸.

Также идентифицированы другие неприродные низкомолекулярные ингибиторы HSP90, включая соединения 2-амино-хиназолин-5-она (WO 2006113498 A2), 2-амино-7,8-дигидро-6Н-пиридо[4,3-*d*]пиримидин-5-она (WO 2007041362 A1) и производные хиназолин-оксима (WO 2008142720 A2), которые воздействуют на HSP90, обеспечивая профилактику или лечение заболеваний, связанных с пролифе-

рацией клеток. Эти молекулы обладают приемлемой эффективностью и лекарственными свойствами.

Итоговые доклинические испытания обеспечили небольшие молекулы с приемлемыми лекарственными свойствами и в сочетании с итоговыми доклиническими исследованиями в рамках подхода ингибирования активности HSP90, достигаемого при использовании 17-AAG, вызвали значительный интерес в данной области к разработке дополнительных ингибиторов HSP90 с улучшенными лекарственными свойствами, которые обеспечили бы полезный терапевтический эффект для пациентов, страдающих от заболеваний, связанных с аномальной укладкой белка.

В описании уровня техники содержатся ссылки на следующие публикации.

1. J.C. Young, V.R. Agashe, K. Siegers and F.U. Hartl, Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5 (2004), p. 781-791.
2. S.D. Westerheide and R.I. Morimoto, Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation, *J. Biol. Chem.* 280 (2005), p. 33097-33100.
3. L. Whitesell and S.L. Lindquist, HSP90 and the chaperoning of cancer, *Nat. Rev. Cancer* 5 (2005), p. 761-772.
4. S.K. Calderwood, M.A. Khaleque, D.B. Sawyer and D.R. Ciocca, Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis, *Trends Biochem. Sci.* 31 (2006), p. 164-172.
5. M.V. Powers and P. Workman, Targeting of multiple signaling pathways by heat shock protein 90 molecular chaperone inhibitors, *Endocr. Relat. Cancer* 13 (Supl. 1) (2006), p. S125-S135.
6. A.J. Macario and Conway de Macario, Sick chaperones, cellular stress, and disease, *N. Engl. J. Med.* 353 (2005), p. 1489-1501.
7. J.M. Barral, S.A. Broadley, G. Schaffar and F.U. Hartl, Roles of molecular chaperones in protein misfolding diseases, *Semin. Cell Dev. Biol.* 15 (2004), p. 17-29.
8. S. Sharp and P. Workman, Inhibitors of the HSP90 molecular chaperone: current status, *Adv. Cancer Res.* 95 (2006), p. 323-348.
9. S. Pacey, U. Banerji, I. Judson and P. Workman, Hsp90 inhibitors in the clinic, *Handbook Exp. Pharmacol.* 172 (2006), p. 331-358.
10. S.M. Roe, C. Prodromou, R. O'Brien, J.E. Ladbury, P.W. Piper and L.H. Pearl, Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol and geldanamycin, *J. Med. Chem.* 42 (1999), p. 260-266.
11. H.J. Kwon, M. Yoshida, K. Abe, S. Horinouchi and T. Beppu, Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotypes of src-transformed fibroblasts, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56 (1992), p. 538-539.
12. T.W. Schulte, S. Akinaga, T. Murakata, T. Agatsuma, S. Sugimoto, H. Nakano, Y.S. Lee, B.B. Simen, Y. Argon, S. Felts, D.O. Toft, L.M. Neckers and S.V. Sharma, Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones, *Mol. Endocrinol.* 13 (1999), p. 1435-1448.
13. Clarke, P.A., Powers, M., and Workman, P. (2006), Inhibition of the molecular chaperone heat shock protein 90 in cancer: consequences for the regulation of survival signaling and induction of cell death. In: *Apoptosis and Cancer Therapy* (Debatin, K.-M. and Fulda, S., Eds), p. 933-959. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
14. C. Prodromou, S.M. Roe, R. O'Brien, J.E. Ladbury, P.W. Piper and L.H. Pearl, Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone, *Cell* 90 (1997), p. 65-75.
15. J.G. Supko, R.L. Hickman, M.R. Grever and L. Malspeis, Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumor agent, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 36 (1995), p. 305-315.
16. R.C. Schnur, M.L. Corman, R.J. Gallaschun, B.A. Cooper, M.F. Dee, J.L. Doty, M.L. Muzzi, J.D. Moyer, C.I. DiOrio and for example Barbacci, Inhibition of the oncogene product p185erbB-2 in vitro and in vivo by geldanamycin and dihydrogeldanamycin derivatives, *J. Med. Chem.* 38 (1995), p. 3806-3812.
17. L.R. Kelland, S.Y. Sharp, P.M. Rogers, T.G. Myers and P. Workman, DT-deaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90, *J. Natl. Cancer Inst.* 91 (1999), p. 1940-1949.
18. U. Banerji, M. Walton, F. Raynaud, R. Grimshaw, L. Kelland, M. Valenti, I. Judson and P. Workman, Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships for the heat shock protein 90 molecular chaperone inhibitor 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin in human ovarian cancer xenograft models, *Clin. Cancer Res.* 11 (2005), p. 7023-7032.
19. U. Banerji, A. O'Donnell, M. Scurr, S. Pacey, S. Stapleton, Y. Asad, L. Simmons, A. Maloney, F. Raynaud, M. Campbell, M. Walton, S. Lakhani, S. Kaye, P. Workman and I. Judson, Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin in patients with advanced malignancies, *J. Clin. Oncol.* 23 (2005), p. 4152-4161.
20. W. Guo, P. Reigan, D. Siegel, J. Zirrolli, D. Gustafson and D. Ross, Formation of 17-allylamino-demethoxygeldanamycin (17-AAG) hydroquinone by NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1: role of 17-AAG hydroquinone in heat shock protein 90 inhibition, *Cancer Res.* 65 (2005), p. 10006-10015.
21. J.R. Sydor, E. Normant, C.S. Pien, J.R. Porter, J. Ge, L. Grenier, R.H. Pak, J.A. Ali, M.S. Dembski, J. Hudak, J. Patterson, C. Penders, M. Pink, M.A. Read, J. Sang, C. Woodward, Y. Zhang, D.S. Grayzel, J. Wright, J.A. Barrett, V.J. Palombella, J. Adams and J.K. Tong, Development of 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin hydroquinone hydrochloride (IPI-504), an anti-cancer agent directed against Hsp90,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103 (2006), p. 17408-17413.

22. K.M. Cheung, T.P. Matthews, K. James, M.G. Rowlands, K.J. Bokcall, S.Y. Sharp, A. Maloney, S.M. Roe, C. Prodromou, L.H. Pearl, G.W. Aherne, E. McDonald and P. Workman, The identification, synthesis, protein crystal structure and in vitro biochemical evaluation of a new 3,4-diarylpyrazole class of Hsp90 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 (2005), p. 3338-3343.

23. S.Y. Sharp, K. Bokcall, M. Rowlands, C. Prodromou, S.M. Roe, A. Maloney, M. Powers, P.A. Clarke, G. Box, S. Sanderson, L. Patterson, T.P. Matthews, K.M. Cheung, K. Ball, A. Hayes, F. Raynaud, R. Marais, L. Pearl, S. Eccles, W. Aherne, E. McDonald and P. Workman, In vitro biological characterization of a novel, synthetic diarylpyrazole resorcinol class of heat shock Protein 90 inhibitors, *Cancer Res.* 67 (2007), p. 2206-2216.

24. B.W. Dymock, X. Barril, P.A. Brough, J.E. Cansfield, A. Massey, E. McDonald, R.E. Hubbard, A. Surgenor, S.D. Roughley, P. Webb, P. Workman, L. Wright and M.J. Drysdale, Novel, potent small-molecule inhibitors of the molecular chaperone Hsp90 discovered through structure-based design, *J. Med. Chem.* 48 (2005), p. 4212-4215.

25. S.Y. Sharp, C. Prodromou, K. Bokcall, M.V. Powers, J.L. Holmes, G. Box, T.P. Matthews, K.M. Cheung, A. Kalusa, K. James, A. Hayes, A. Hardcastle, B. Dymock, P.A. Brough, X. Barril, J.E. Cansfield, L. Wright, A. Surgenor, N. Foloppe, R.E. Hubbard, W. Aherne, L. Pearl, K. Jones, E. McDonald, F. Raynaud, S. Eccles, M. Drysdale and P. Workman, Inhibition of the heat shock protein 90 molecular chaperone in vitro and in vivo by novel, synthetic, potent resorcinyl pyrazole/isokcazole amide analogues, *Mol. Cancer Ther.* 6 (2007), p. 1198-1211.

26. G. Chiosis, M.N. Timaul, B. Lucas, P.N. Munster, F.F. Zheng, L. Sepp-Lorenzino and N. Rosen, A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of Hsp90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells, *Chem. Biol.* 8 (2001), p. 289-299.

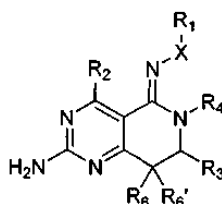
27. M. Vilenchik, D. Solit, A. Basso, H. Huezo, B. Lucas, H. He, N. Rosen, C. Spampinato, P. Modrich и G. Chiosis, Targeting wide-range oncogenic transformation via PU24FCl, a specific inhibitor of tumor Hsp90, *Chem. Biol.* 11 (2004), p. 787-797.

28. H. He, D. Zatorska, J. Kim, J. Aguirre, L. Llauger, Y. She, N. Wu, R.M. Immormino, D.T. Gewirth and G. Chiosis, Identification of potent water soluble purine-scaffold inhibitors of the heat shock protein 90, *J. Med. Chem.* 49 (2006), p. 381-390.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям, обладающим активностью в отношении ингибирования HSP90. Согласно настоящему изобретению также предложены композиции и наборы, включающие такие соединения. Дополнительно, настоящее изобретение относится к способам изготовления соединений согласно настоящему изобретению, а также промежуточным соединениям, которые можно использовать в указанных способах.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено соединение формулы



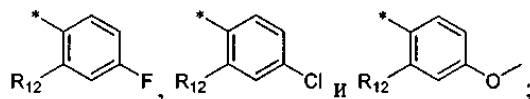
или его таутомер, стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль, где

X представляет собой O;

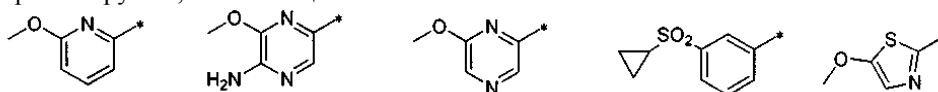
R₁ представляет собой -L-R₄₅;

R₂ выбран из группы, включающей водород и метил;

R₃ выбран из группы, включающей



R₁₂ выбран из группы, включающей



R₄ представляет собой водород;

R₆ и R_{6'}, оба, представляют водород;

R₄₅ выбран из группы, включающей водород, amino и гидроксил;

L представляет собой (-CR₄₆R₄₇)_n;

n равно 1, 2, 3, 4 или 5;

R₄₆ и R₄₇, каждый, независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, amino,

(C₁₋₆)алкил и гидроксиполаралкил.

Другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтическим композициям, которые включают ингибитор HSP90 согласно настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут необязательно содержать 0.001-100% одного или более ингибиторов согласно настоящему изобретению. Такие фармацевтические композиции можно вводить или вводить совместно различными путями, включая, например, пероральное, парентеральное, интраперитонеальное, внутривенное, внутриартериальное, чрескожное, сублингвальное, внутримышечное, ректальное, трансбуккальное, интраназальное введения, введение при помощи липосом, введение путем ингаляции, вагинальное введение, введение в глаз и местную доставку (например, при помощи катетера или стента), подкожное введение, введение в жировую ткань, введение в сустав или через трахею. Композиции также можно вводить или вводить совместно в формах с замедленным высвобождением.

Один аспект настоящего изобретения относится к способам приготовления соединений, наборов и изделий согласно настоящему изобретению. Например, в настоящем описании приведено несколько схем синтеза для синтеза соединений согласно настоящему изобретению.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к способам применения соединений и композиций согласно настоящему изобретению.

В одном варианте осуществления соединения и композиции применяют для ингибирования HSP90.

В другом варианте осуществления соединения и композиции применяют для лечения болезненных состояний, в отношении которых HSP90 обладает активностью или участвует в патогенезе и/или развитии симптомов данного болезненного состояния.

В другом варианте осуществления соединения вводят субъекту в случае, когда активность HSP90 в организме субъекта изменена, предпочтительно снижена.

Относительно всех описанных выше вариантов реализации необходимо иметь в виду, что настоящее изобретение охватывает все фармацевтически приемлемые ионизированные формы (например, соли) и сольваты (например, гидраты) соединений, вне зависимости от того, указаны ли такая ионизированная форма или сольват, поскольку они хорошо известны в соответствующей области. Также следует отметить, что, если не указана конкретная стереохимическая структура, предполагается, что указание на соединение охватывает все возможные стереоизомеры (например, энантиомеры или диастереомеры, в зависимости от числа хиральных центров) вне зависимости от того, представлено ли данное соединение в виде отдельного изомера или смеси изомеров. Далее, если не указано другое, подразумевается, что указание на соединение охватывает все возможные резонансные формы и таутомеры. В формуле изобретения выражения "соединение, содержащее формулу", "соединение, соответствующее формуле" и "соединение формулы" охватывает данное соединение и все фармацевтически приемлемые ионизированные формы и сольваты, все возможные стереоизомеры и все возможные резонансные формы и таутомеры, если в конкретном пункте формулы явно не указано другое.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2, упоминаемые в настоящем описании.

На фиг. 2 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксипропил оксим бензоата, форма А.

На фиг. 3 показаны результаты дифференциальной сканирующей колориметрии и термогравиметрии (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксипропил оксим бензоата, формы А.

Определения

Если не указано другое, приведенные ниже термины используются в данном описании в определенном ниже значении.

Следует отметить, что в настоящем описании и формуле изобретения форма единственного числа включает и множество объектов, если из контекста явно не следует обратное. Кроме того, определения стандартных химических терминов можно найти в справочных изданиях, включая Carey and Sundberg "Advanced Organic Chemistry 5th Ed.", Vols. A (2007) and B (2007), Springer Science+Business Media, New York. Также, если не указано другое, используются стандартные методы масс-спектропии, ЯМР, ВЭЖХ, химии белка, биохимии, технологии рекомбинантных ДНК и фармакологии, находящиеся в пределах компетенции специалиста в данной области.

"*" в химической структуре, в частности в радикале, обозначает точку присоединения радикала.

"Алкил", представленный отдельно, представляет собой линейный или разветвленный, насыщенный или ненасыщенный, алифатический радикал, цепь которого состоит из атомов углерода. В обычно используемых обозначениях (C_x)алкил и (C_{x-y})алкил X и Y указывают число атомов углерода в цепи. Например, (C₁₋₆)алкил включает алкилы, имеющие цепь, состоящую из 1-6 атомов углерода (например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, сек-бутил, изобутил, трет-бутил, винил, аллил, 1-пропенил, изопропенил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил, 2-метилаллил, этинил, 1-припинил, 2-пропинил и т.п.). Алкил совместно с другим радикалом (например, как в арилалкиле, гетероарилалкиле и т.п.) обозначает линей-

ный или разветвленный, насыщенный или ненасыщенный алифатический двухвалентный радикал, содержащий указанное число атомов, или, если число атомов не указано, обозначает связь (например, (C₆₋₁₀)арил(C₁₋₃)алкил включает бензил, фенэтил, 1-фенилэтил, 3-фенилпропил, 2-тиенилметил, 2-пиридинилметил и т.п.). В конкретных вариантах осуществления "алкил", отдельно или совместно с другим радикалом, может представлять собой (C₁₋₂₀)алкил, (C₁₋₁₅)алкил, (C₁₋₁₀)алкил, (C₁₋₅)алкил или (C₁₋₃)алкил. В альтернативном варианте "алкил", отдельно или совместно с другим радикалом, может представлять собой (C₁)алкил, или (C₂)алкил, или (C₃)алкил.

"Амино" обозначает азотсодержащую группу, содержащую два дополнительных заместителя, где, например, к азоту присоединен атом водорода или углерода. Например, типичные аминогруппы включают -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, -NH((C₁₋₁₀)алкил), -N((C₁₋₁₀)алкил)₂, -NH(арил), -NH(гетероарил), -N(арил)₂, -N(гетероарил)₂ и т.п. Необязательно, указанные два заместителя вместе с атомом азота образуют цикл. Если не указано другое, соединения согласно настоящему изобретению, содержащие аминокгруппы, могут включать их замещенные производные. Подходящие защитные группы для аминокгрупп включают ацетил, трет-бутоксикарбонил, бензилоксикарбонил и т.п.

"Животное" включает людей и млекопитающих, не являющихся людьми (например, собаки, кошки, кролики, крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свиньи, олени и т.д.), а также не млекопитающих (например, птица и т.п.).

"Заболевание" включает, в частности, нездоровое состояние животного или его части и включает нездоровые состояния, которые могут быть вызваны или присущи медицинским или ветеринарным средствам лечения, применяемым к животному, т.е. "побочные эффекты" такого лечения.

"ЕС₅₀" обозначает молярную концентрацию агониста, которая обеспечивает 50% максимального возможного эффекта такого агониста. Действие агониста может быть стимулирующим или ингибирующим.

"Гидроксид" обозначает радикал -ОН.

"IC₅₀" обозначает молярную концентрацию, которая обеспечивает 50% ингибирование целевого фермента.

"Изомеры" обозначают соединения, имеющие идентичные молекулярные формулы, но различающиеся по природе последовательности соединения атомов или по расположению атомов в пространстве. Изомеры, которые различаются расположением атомов в пространстве, называются "стереоизомерами". Стереои́зомеры, которые являются зеркальным отражением друг друга, называются "диастереомерами", а стереомеры, которые не являются накладывающимися зеркальными отражениями, называются "энантиомерами" или иногда "оптическими изомерами", атом углерода, связанный с четырьмя неидентичными заместителями, называется "хиральным центром", соединение с одним хиральным центром имеет две энантиомерные формы противоположной хиральности. Смесь двух энантиомерных форм называется "рацемической смесью". Соединение с одним или более хиральными центрами имеет 2ⁿ⁻¹ энантиомерных пар, где n - это число хиральных центров. Соединения с одним или более хиральными центрами могут существовать либо в форме отдельного диастереомера, либо в форме смеси диастереомеров, называемой "диастереомерной смесью". В случае присутствия одного хирального центра стереоизомер может характеризоваться абсолютной конфигурацией этого хирального центра. Абсолютная конфигурация относится к пространственному расположению заместителей, присоединенных к хиральному центру. Энантиомеры характеризуются абсолютной конфигурацией хиральных центров и описываются в соответствии с правилами последовательностей R- и S-, предложенными Cahn, Ingold и Prelog. Правила стереохимической номенклатуры, методы определения стереохимической структуры и разделения стереоизомеров хорошо известны в соответствующей литературе (например, см. "Advanced Organic Chemistry", 5th edition, March, Jerry, John Wiley & Sons, New York, 2001).

"Уходящая группа" обозначает группу в смысле, принятом в синтетической органической химии, т.е. атом или группу, которая может быть удалена в условиях реакции (например, алкилирования). Примеры уходящих групп включают, но не ограничиваются перечисленными, галоген (например, F, Cl, Br и I), алкил (например, метил и этил) и сульфонилокси (например, мезилокси, этансульфонилокси, бензолсульфонилокси и тозиллокси), тиометил, тиенилокси, дигалофосфиноилокси, тетрагалофосфокси, бензилокси, изопропилокси, ацилокси и т.п.

"Фармацевтически приемлемый" обозначает пригодный для приготовления фармацевтической композиции, которая в общем безопасна, не токсична и не обладает нежелательными с биологической или другой точки зрения свойствами, и включает объекты, приемлемые для использования в ветеринарии, а также для фармацевтического применения для людей.

"Фармацевтически приемлемые соли" обозначают соли соединений согласно настоящему изобретению, которые являются фармацевтически приемлемыми в определенном выше смысле и которые обладают желаемой фармакологической активностью. Такие соли включают соли присоединения, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористо-водородная кислота, бромисто-водородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п.; или органическими кислотами, такими как уксусная кислота, пропионовая кислота, гексановая кислота, гептановая кислота, циклопентанпропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, молочная кислота, малоновая кислота,

янтарная кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, винно-каменная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, о-(4-гидроксibenzoил)бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 1,2-этандисульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, р-хлоробензолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, р-толуолсульфоновая кислота, камфорсульфоновая кислота, 4-метилбисцикло[2.2.2]окс-2-ен-1-карбоновая кислота, глюкогептоновая кислота, 4,4'-метилден-бис-(3-гидрокси-2-ен-1-карбоновая кислота), 3-фенилпропионовая кислота, триметилуксусная кислота, трет-бутилуксусная кислота, лаурилсерная кислота, глюконовая кислота, глютаминовая кислота, гидроксинафтоевая кислота, салициловая кислота, стеариновая кислота, муконовая кислота и т.п.

Фармацевтически приемлемые соли также включают соли присоединения основания, которые могут быть образованы, если присутствующие протоны кислоты способны взаимодействовать с неорганическими и органическими основаниями. Подходящие неорганические основания включают гидроксид натрия, карбонат натрия, гидроксид калия, гидроксид алюминия и гидроксид кальция. Приемлемые органические основания включают этаноламин, бизаноламин, триэаноламин, трометамин, N-метилглюкамин и т.п.

"Защищенные производные" обозначает производные, в которых реактивный сайт или сайты блокированы защитными группами. Защищенные производные пригодны для изготовления ингибиторов или могут сами обладать ингибирующей активностью. Подробный перечень защитных групп можно найти в P.G.M. Wuts and T.W. Greene, "Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, 4th edition, John Wiley & Sons, Inc. 2007.

"Субъект" и "пациент" включают людей и млекопитающих, не являющихся людьми (например, собаки, кошки, кролики, крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свиньи, олени и т.д.), а также не млекопитающих (например, птица и т.п.).

"Терапевтически эффективное количество" обозначает количество, которое при введении животному для лечения заболевания является достаточным для того, чтобы обеспечить такое лечение заболевания.

"Терапия" или "лечение" обозначает любое введение (применение) соединения согласно настоящему изобретению и включает:

(1) предотвращение возникновения заболевания у животного, которое может быть предрасположено к такому заболеванию, но у которого оно еще не проявилось, или которое не демонстрирует патологической картины или симптомов такого заболевания,

(2) подавление заболевания у животного, испытывающего или демонстрирующего патологическую картину или симптомы, характерные для больного (т.е. блокирование дальнейшего развития патологической картины или симптомов), или

(3) снижение выраженности заболевания у животного, испытывающего или демонстрирующего патологическую картину или симптомы, характерные для больного (т.е. обращение патологической картины или симптомов).

Относительно всех приведенных в настоящем описании определений следует отметить, что они являются открытыми в том смысле, что могут быть включены другие заместители, помимо указанных. Таким образом (C₁)алкил указывает на то, что присутствует один атом углерода, но не указывает на то, какие существуют заместители при данном атоме углерода. Соответственно, (C₁)алкил включает метил (т.е. -CH₃), а также -CRR'R'', где R, R' и R'', каждый, независимо и необязательно могут представлять собой водород или дополнительный заместитель, в котором атом, связанный с данным атомом углерода, представляет собой гетероатом или циано. Следовательно, CF₃, CH₂OH и CH₂CN, примерами являются все (C₁)алкилы. Аналогично, такие термины, как "алкиламино" и т.п., включают диалкиламино и т.п.

Кроме того, предполагается, что атомы, образующие настоящее соединение, включают все изотопы таких атомов. В настоящем описании изотопы включают все атомы, имеющие одинаковый атомный номер, но разные массовые числа. В качестве неограничивающего примера, изотопы водорода включают тритий и дейтерий, а изотопы углерода включают ¹³C и ¹⁴C.

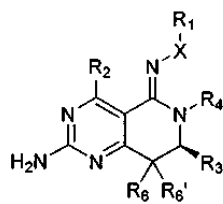
Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые можно применять для ингибирования HSP90. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, включающим такие соединения. Дополнительно, настоящее изобретение относится к способам и промежуточным соединениям, которые можно использовать для изготовления указанных соединений. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам применения таких соединений. Следует отметить, что соединения согласно настоящему изобретению могут также обладать активностью в отношении других членов того же семейства белков и, таким образом, их можно применять в отношении болезненных состояний, связанных с указанными другими членами данного семейства.

Следует отметить, что соединения согласно настоящему изобретению могут также обладать ингибирующей активностью в отношении других членов семейства HSP, и таким образом, их можно использовать при заболеваниях, связанных с этими другими членами данного семейства.

Соединения согласно настоящему изобретению.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложены соединения, которые можно применять в качестве ингибиторов HSP90. В одном варианте осуществления ингибитор HSP90 согласно настоящему изобретению имеет формулу



IVa

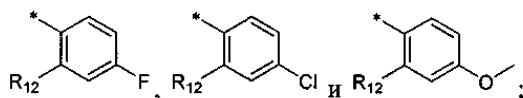
или его таутомер, стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль, где

X представляет собой O;

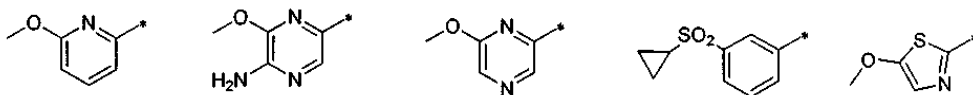
R₁ представляет собой -L-R₄₅;

R₂ выбран из группы, включающей водород и метил;

R₃ выбран из группы, включающей



R₁₂ выбран из группы, включающей



R₄ представляет собой водород;

R₆ и R_{6'}, оба, представляют водород;

R₄₅ выбран из группы, включающей водород, amino и гидроксил;

L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_n$;

n равно 1, 2, 3, 4 или 5;

R₄₆ и R₄₇, каждый, независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, amino, (C₁₋₆)алкил и гидрокси(C₁₋₆)алкил.

X.

В одном варианте описанных выше примеров осуществления соединений согласно настоящему изобретению X представляет собой O.

R₁.

В одном конкретном варианте указанных выше примеров осуществления соединений согласно настоящему изобретению R₁ представляет собой -L-R₄₅, где L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_n$; n равно 1, 2, 3, 4 или 5; R₄₅ независимо выбран из группы, включающей водород, гидроксил, amino.

В других вариантах L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_5$. В других вариантах L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_4$. В других вариантах L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_3$. В других вариантах L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_2$. В других вариантах L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})$. L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_n$, R₄₆ и R₄₇, каждый, независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, amino, (C₁₋₆)алкил и гидрокси(C₁₋₆)алкил.

В других вариантах R₄₆ и R₄₇, оба, представляют собой водород.

R₂.

В другом варианте осуществления и вариантов соединений согласно настоящему изобретению R₂ выбран из группы, включающей водород, метил.

R₄.

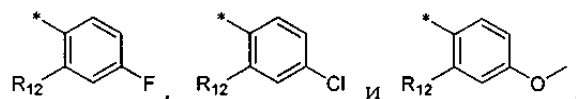
В одном варианте R₄ представляет собой водород.

R₆.

В одном варианте R₆ представляет собой водород.

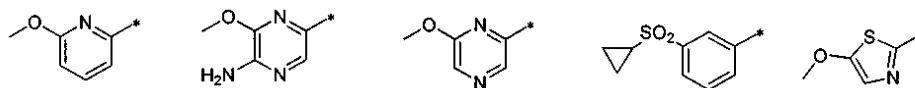
R₃.

В одном варианте указанных выше примеров осуществления соединений согласно настоящему изобретению R₃ выбран из группы, включающей



R₁₂.

В описанных выше примерах и вариантах осуществления настоящего изобретения, в некоторых вариантах, R₁₂ выбран из группы, включающей

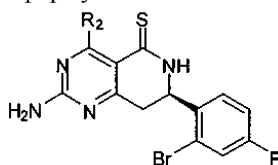


Конкретные примеры соединений согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее:

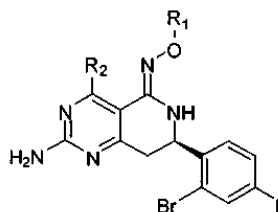
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(R)-2,3-дигидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-2,3-дигидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(R)-3,4-дигидроксипропил оксим;
- (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-3,4-дигидрокси-4-метилпентил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(3'-(циклопропилсульфонил)-5-фторбифенил-2-ил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-2,3-дигидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-2-амино-3-гидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипирозин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-4,5-дигидроксипентил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(S)-3-амино-2-гидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-3-гидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-4-гидроксипропил оксим;
- (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(R)-4,5-дигидроксипентил оксим;
- (S,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиридин-5(6H)-он O-(R)-3,4-дигидроксипропил оксим.

В других аспектах настоящее изобретение относится к способам получения соединений, пригодных в качестве ингибиторов HSP90.

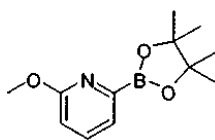
В одном варианте осуществления предложен способ, включающий осуществление реакции соединения формулы



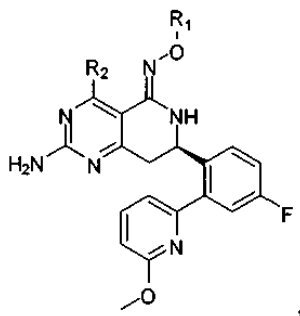
с соединением формулы H₂N-O-R₁ в условиях, в которых образуется промежуточное соединение, имеющее формулу



осуществление реакции указанного промежуточного соединения с соединением формулы



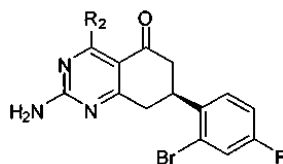
в условиях, в которых образуется продукт, имеющий формулу



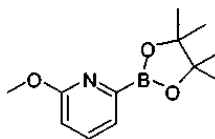
где R_1 и R_2 имеют значения, указанные выше.

В другом варианте осуществления способ получения соединения согласно настоящему изобретению включает

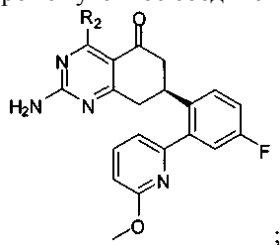
осуществление реакции соединения формулы



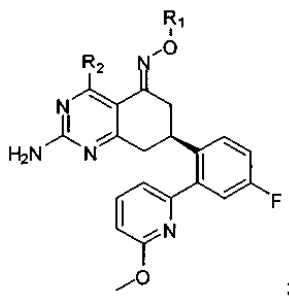
с соединением формулы



в условиях, в которых образуется промежуточное соединение, имеющее формулу



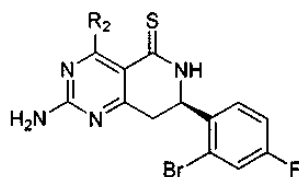
и осуществление реакции указанного промежуточного соединения с соединением формулы H_2N-O-R_1 в условиях, в которых образуется продукт, имеющий формулу



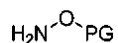
где R_1 и R_2 имеют значения, указанные выше.

В еще одном варианте осуществления способ получения соединения согласно настоящему изобретению включает

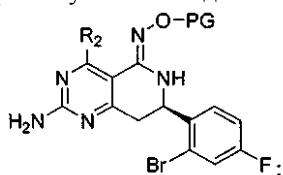
осуществление реакции соединения формулы



с исходным материалом I, имеющим формулу



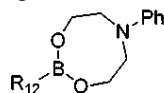
в условиях, в которых образуется промежуточное соединение F, имеющее формулу



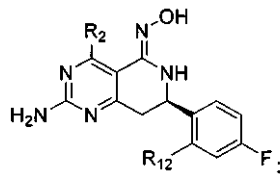
где PG представляет собой защитную группу, выбранную из группы, включающей ((C₁₋₆)₃алкил)силил, (((C₁₋₆)₃алкил)₃к)(фенил)_ксилил, причем к равен 0-3, бензил и тетрагидропиранил; R₂ имеет значения, указанные выше.

В описанных выше вариантах осуществления соединения может быть получено способом А, включающим

осуществление сочетания исходного материала II, имеющего формулу



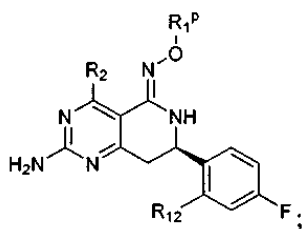
с указанным промежуточным соединением F, что обеспечивает образование промежуточного соединения G, имеющего формулу



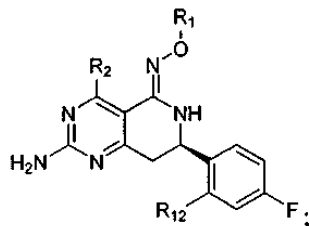
осуществление сочетания исходного материала III, имеющего формулу



с указанным промежуточным соединением G в условиях, в которых образуется промежуточное соединение H, имеющего формулу



снятие защиты с промежуточного соединения H в условиях, в которых образуется продукт, имеющий формулу



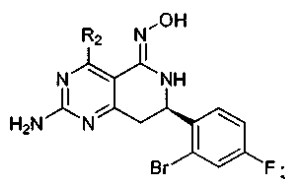
где R₁^P представляет собой защищенную форму R₁;

R₁ имеет значения, указанные выше;

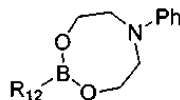
R₁₂ имеет значения, указанные выше.

В описанных выше вариантах осуществления соединения может быть получено способом В, включающим

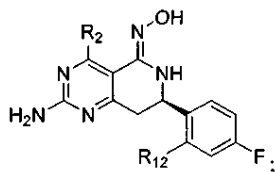
снятие защиты с промежуточного соединения F в условиях, в которых образуется промежуточное соединение F', имеющее формулу



осуществление сочетания исходного материала II, имеющего формулу



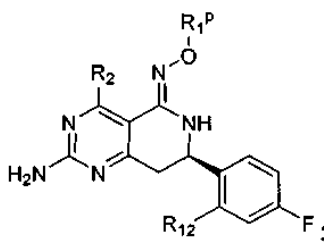
с указанным промежуточным соединением F', что обеспечивает образование промежуточного соединения G, имеющего формулу



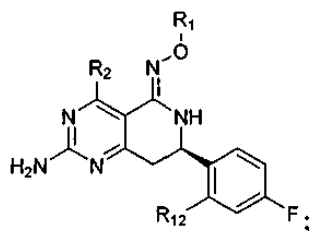
осуществление сочетания исходного материала III, имеющего формулу



с указанным промежуточным соединением G в условиях, в которых образуется промежуточное соединение H, имеющее формулу



снятие защиты с промежуточного соединения H в условиях, в которых образуется продукт, имеющий формулу



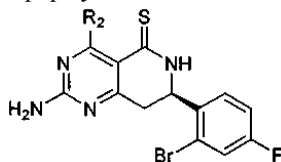
где R₁^P представляет собой защищенную форму R₁;

R₁ имеет значение, указанное выше;

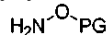
R₁₂ имеет значение, указанное выше.

Другой способ, пригодный для получения соединений согласно настоящему изобретению, включает

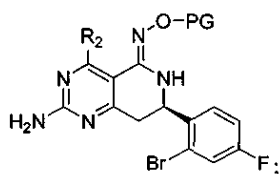
осуществление реакции соединения формулы



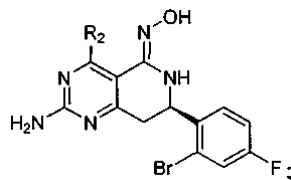
с исходным материалом I, имеющим формулу



в условиях, в которых образуется промежуточное соединение F, имеющее формулу



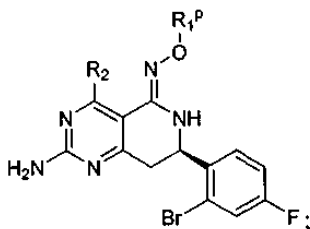
снятие защиты с промежуточного соединения F в условиях, в которых образуется промежуточное соединение F', имеющее формулу



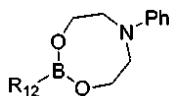
осуществление сочетания исходного материала III, имеющего формулу



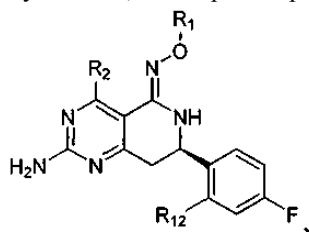
с промежуточным соединением F' в условиях, в которых образуется промежуточное соединение J, имеющее формулу



снятие защиты, а затем осуществление сочетания исходного материала II, имеющего формулу



с промежуточным соединением J в условиях, в которых образуется продукт, имеющий формулу



где R_1^P представляет собой защищенную форму R_1 ;

R_1 имеет значение, указанное выше;

R_2 имеет значение, указанное выше;

R_{12} имеет значение, указанное выше.

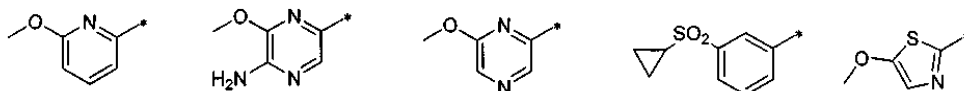
Во всех описанных выше вариантах осуществления способов в некоторых вариантах R_1 представляет собой $-L-R_{45}$,

где L представляет собой $(-CR_{46}R_{47}-)_n$, где n равно 1, 2, 3, 4 или 5; R_{46} и R_{47} , каждый, независимо выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, гидроксиполарный алкил, амино, алкил;

R_{45} независимо выбран из группы, включающей водород, гидроксил, амино.

В некоторых вариантах способа согласно настоящему изобретению R_2 выбран из группы, включающей водород, метил.

В описанных выше вариантах осуществления способов согласно настоящему изобретению R_{12} выбран из группы, включающей



Следует отметить, что соединения согласно настоящему изобретению могут иметь форму фармацевтически приемлемой соли, биоразлагаемого эфира, биогидролизуемого амида, биогидролизуемого карбамата, сольвата, гидрата или пролекарства. Например, соединение необязательно содержит заместитель, который *in vivo* может превратиться в другой заместитель, например водород.

Далее следует отметить, что соединение может быть представлено в виде смеси стереоизомеров, либо соединение может быть представлено в виде единственного стереоизомера.

Согласно другому аспекту предложена композиция, содержащая в качестве активного ингредиента соединение согласно любому из описанных выше вариантов воплощения или вариантов. В одном конкретном варианте композиция представляет собой твердую форму, пригодную для перорального введения. В другом конкретном варианте композиция представляет собой жидкую форму, пригодную для перорального введения. В еще одном конкретном варианте композиция представляет собой таблетку. В еще одном конкретном варианте композиция представляет собой жидкую лекарственную форму, пригодную для парентерального введения.

Согласно настоящему изобретению также предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из описанных выше вариантов и примеров осуществления, причем указанная композиция пригодна для введения путем, выбранным из группы, включающей пероральное, парентеральное, интраперитонеальное, внутривенное, внутриартериальное, чрескожное, сублингвальное, внутримышечное, ректальное, трансбуккальное, интраназальное введения, введение при помощи липосом, введение путем ингаляции, вагинальное введение, введение в глаз и местную доставку (например, при помощи катетера или стента), подкожное введение, введение в жировую ткань, введение в сустав или через трахею.

Согласно еще одному аспекту предложен способ лечения болезненного состояния, в отношении которого HSP90 обладает активностью, которая вносит вклад в патогенез и/или симптоматику данного болезненного состояния, причем указанный способ включает обеспечение присутствия соединения согласно любому из описанных выше вариантов и примеров осуществления в количестве, терапевтически эффективным для данного болезненного состояния.

В каждом из указанных выше вариантов болезненное состояние выбрано из группы, включающей рак, воспаление, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, артрит и отторжение трансплантата.

В одном из вариантов каждого из описанных выше способов болезненное состояние представляет собой рак. Рак выбран из группы, включающей плоскоклеточную карциному, астроцитому, саркому Капоши, глиобластому, немелкоклеточный рак легких, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, меланому, рак яичника, рак предстательной железы, рак груди, мелкоклеточный рак легкого, глиому, рак прямой и ободочной кишки, рак мочеполовой системы, рак желудочно-кишечного тракта, рак почки, раковые заболевания крови, неходжкинскую лимфому, лимфому, множественную миелому, лейкемию (включая острую миелогенную лейкемию, хроническую миелогенную лейкемию, хроническую лимфоцитарную лейкемию), миелодиспластический синдром и мезотелиому.

В одном из вариантов каждого из описанных выше способов HSP90 предоставляет HSP90 α . В другом варианте HSP90 представляет собой HSP90 β .

Соли, гидраты и пролекарства ингибиторов HSP90.

Следует понимать, что соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены и их можно необязательно вводить в форме солей, гидратов и пролекарств, которые *in vivo* превращаются в соединения согласно настоящему изобретению. Например, в объем настоящего изобретения входят превращение соединений согласно настоящему изобретению в и использование их в форме фармацевтически приемлемых солей, полученных из различных органических и неорганических кислот и оснований в соответствии с известными процедурами.

В случае, когда у соединения согласно настоящему изобретению есть форма свободного основания, такие соединения можно приготовить в форме фармацевтически приемлемой соли присоединения кислоты с фармацевтически приемлемой неорганической или органической кислотой, например гидрогалидом, таким как гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид; другие минеральные кислоты и соответствующие соли, такие как сульфат, нитрат, фосфат и т.д.; а также алкил- и моноарил и моноарилсульфонаты, такие как этансульфонат, толуолсульфонат и бензолсульфонат; а также другие органические кислоты и соответствующие соли, такие как ацетат, тартрат, малеат, сукцинат, цитра, бензоат, салицилат и аскорбат. Другие соли присоединения кислот согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются перечисленными, адипат, альгинат, аргинат, аспартат, бисульфат, бисульфит, бромид, бутират, камфорат, камфорсульфонат, каприлат, хлорид, хлорбензоат, циклопентанпропионат, диглюконат, дигидрофосфат, динитробензоат, додецилсульфат, фумарат, галактерат (из муциновой кислоты), галактуронат, глюкогоптонат, глюконат, глутамат, глицерофосфат, гемисукцинат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гипшурат, гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, иодид, изотионат, изобутират, лактат, лактобионат, малат, малонат, мандалат, метафосфат, метансульфонат, метилбензоат, моногидрофосфат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, оксалат, олеат, памоат, пектинат, персульфат, фенилацетат, 3-фенилпропионат, фосфат, фосфонат и фталат. Следует понимать, что формы свободных оснований обычно несколько отличаются от соответствующих солей по физическим свойствам, таким как растворимость в полярных растворителях, но в остальном соли эквивалентны соответствующим формам свободных оснований для целей настоящего изобретения.

В случае, когда у соединений согласно настоящему изобретению есть форма свободной кислоты,

могут быть получены фармацевтически приемлемые соли присоединения основания путем осуществления реакции соединения в форме свободного основания с фармацевтически приемлемым неорганическим или органическим основанием. Примерами таких оснований являются гидроксиды щелочных металлов, включая гидроксиды калия, натрия и лития; гидроксиды щелочно-земельных металлов, такие как гидроксиды бария и кальция; алкоксиды щелочных металлов, например этанолат калия и пропанолат натрия; и различные органические основания, такие как гидроксид аммония, пиперидин, диэтаноламин и N-метилглутамин. Также предусмотрены аммонийные соли соединений согласно настоящему изобретению. Другие соли оснований согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются перечисленными, соли меди, соли двухвалентного и трехвалентного железа, соли лития, магния, соли двухвалентного и трехвалентного марганца, калия, натрия и цинка. Соли органических оснований включают, но не ограничиваются перечисленными, соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенные амины, включая природные замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, например аргинин, бетаин, кофеин, хлорпрокаин, холин, N,N'-дибензилэтилендиамин (бензатин), дициклогексилламин, диэтаноламин, 2-диэтиламиноэтанол, 2-диметиламиноэтанол, этаноламин, этилендиамин, N-этилморфолин, N-этилпиперидин, глюкамин, глюкозамин, гистидин, гидрабразин, изопропиламин, лидокаин, лизин, меглумин, N-метил-D-глутамин, морфолин, пиперазин, пиперидин, полиаминовые смолы, прокаин, пурины, теобромин, триэтаноламин, триэтиламин, триметиламин, трипропиламин и трис-(гидроксиметил)метиламин (триметанамин). Следует понимать, что формы свободных кислот обычно несколько отличаются от соответствующих солей по физическим свойствам, таким как растворимость в полярных растворителях, но в остальном соли эквивалентны соответствующим формам свободных оснований для целей настоящего изобретения.

Соединения согласно настоящему изобретению, которые включают основные группы, содержащие азот, могут быть кватернизированы такими агентами, как (C₁₋₄)алкилгалиды, например метил, этил, изопропил и трет-бутил хлориды, бромиды и иодиды; ди(C₁₋₄)алкилсульфаты, например диметил, диэтил и диамил сульфаты; (C₁₀₋₁₈)алкилгалиды, например децил-, додецил-, лаурил-, миристил- и стеарилхлориды, бромиды и иодиды; а также арил(C₁₋₄)алкилгалиды, например бензилхлорид и фенэтилбромид. Такие соли обеспечивают получение как водорастворимых, так и жирорастворимых соединений согласно настоящему изобретению.

Также могут быть получены защищенные производные соединений согласно настоящему изобретению. Примеры методик, которые можно применять для получения защитных групп и их удаления, можно найти в P.G.M. Wuts and T.W. Greene in "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" 4th edition, John Wiley and Sons, 2007.

Соединения согласно настоящему изобретению также могут быть легко получены или сформированы в процессе осуществления способов согласно настоящему изобретению в форме сольватов (например, гидратов). Гидраты соединений согласно настоящему изобретению могут быть легко получены путем рекристаллизации из смеси водного/органического растворителей, таких как диоксин, тетрагидрофуран или метанол.

В настоящем описании "фармацевтически приемлемая соль" включает любое соединение согласно настоящему изобретению, которое применяют в форме соли, в частности, если соль обеспечивает улучшенную фармакокинетику соединения по сравнению со свободной формой соединения или другой солевой формой соединения. Форма фармацевтически приемлемой соли может также, в первую очередь, обеспечивать желаемые фармакокинетические свойства соединения, которыми оно ранее не обладало, и может даже положительно влиять на соединение в отношении его терапевтической активности в организме. Примером фармакокинетического свойства, на которое может быть оказано положительное влияние, является путь, которым данное соединение транспортируется через мембрану клетки, что, в свою очередь, может оказать прямое и положительное влияние на всасывание, распределение, биотрансформацию и выведение соединения. Хотя путь введения фармацевтической композиции имеет важное значение, и различные анатомические, физиологические и патологические факторы могут значительно снизить биодоступность, растворимость соединения обычно зависит от природы конкретной соли, которая используется. Для специалиста очевидно, что водный раствор соединения обеспечивает наиболее быстрое всасывание соединения в организме субъекта, которого лечат, а жировые растворы и суспензии, а также твердые лекарственные формы замедляют всасывание соединения.

Применение соединений согласно настоящему изобретению.

Одна группа симптомов, для лечения которых можно использовать ингибиторы HSP90 согласно настоящему изобретению, представляет собой симптомы, включающие нежелательную или неконтролируемую пролиферацию клеток. Такие симптомы включают доброкачественные опухоли, различные типа раковых заболеваний, такие как первичные опухоли и метастазы опухолей, рестеноз (например, поражение сердечных, сонных и церебральных сосудов), аномальная стимуляция клеток эндотелия (атеросклероз), повреждения тканей организма в результате хирургического вмешательства, аномального заживления ран, заболеваний, которые приводят к фиброзу тканей, травмы от повторяющихся движений, нарушения тканей, которые на являются высоковаскуляризованными, пролиферативные реакции, связанные с трансплантацией органов, нейродегенеративные заболевания, включая болезнь Паркинсона,

болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона и прионные заболевания, воспаление и заболевания, связанные с воспалением, такие как боль, головные боли, лихорадка, артрит, астма, бронхит, тендоинит, экзема, воспалительное заболевание кишечника и заболевания, зависящие от ангиогенеза, такие как рак, артрит, диабетическая ретинопатия, возрастная дегенерация желтого пятна (AMD) и инфекционные заболевания, в частности грибковые инфекции, вирусные заболевания, включая, но не ограничиваясь перечисленными, заболевания, вызванные вирусом гепатита В (HBV), вирусом гепатита С (HCV) и вирусом простого герпеса типа 1 (HSV-1), заболевания сердечно-сосудистой и центральной нервной систем^{3, 4, 5, 6, 7}.

В целом, клетки в доброкачественных опухолях сохраняют свои дифференцированные признаки и не делятся полностью неконтролируемым образом. Доброкачественная опухоль обычно локализована и не образует метастазы. Конкретные типы доброкачественных опухолей, которые можно лечить ингибиторами HSP90 согласно настоящему изобретению, включают следующее: гемангиомы, гепатоцеллюлярные аденомы, кавернозные гемангиомы, фокальная нодулярная гиперплазия, нейромы слухового нерва, нейрофиброма, цистаномы желчных протоков, фиброма, липомы, лейомиомы, мезотелиомы, тератомы, миксомы, нодулярная регенеративная гиперплазия, трахома и пирогенные гранулемы.

В случае злокачественных опухолей клетки становятся недифференцированными, не отвечают на сигналы контроля роста со стороны организма и размножаются неконтролируемым образом. Злокачественные опухоли инвазивны и способны к распространению в отдаленные участки (метастазированию). Злокачественные опухоли обычно делят на две категории: первичные и вторичные. Первичные опухоли возникают непосредственно в ткани, где их обнаруживают. Вторичные опухоли или метастазы образуются в другом участке организма, но распространяются в отдаленные органы. Обычные пути метастазирования представляют собой прямое прорастание в прилежащие структуры, распространение по кровеносной или лимфатической системам и распространение вдоль пластов тканей и пустот организма (перитонеальная жидкость, цереброспинальная жидкость и т.д.).

Конкретные типы раковых заболеваний или злокачественных опухолей, первичных или вторичных, которые можно лечить с использованием ингибиторов HSP90 согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются следующими, лейкемию, рак молочной железы, рак мочевого пузыря, рак кожи, рак кости, рак предстательной железы, рак печени, рак легкого, рак мозга, рак гортани, рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, рак паращитовидной железы, рак щитовидной железы, надпочечников, нервной ткани, мочевого пузыря, головы и шеи, толстой кишки, желудка, рак прямой и толстой кишки, бронхов, почки, базальноклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома язвенного и папиллярного типов, метастазирующая карцинома кожи, остеосаркома, саркома Эвинга, ретикулосаркома, миелома, гигантскоклеточная саркома, мелкоклеточная опухоль легкого, немелкоклеточная опухоль легкого, опухоль островковых клеток, первичная опухоль мозга, острые и хронические лимфоцитарные и гранулоцитарные опухоли, волосковоклеточные опухоли, аденома, гиперплазия, карцинома спинного мозга, феохромоцитома, mucosal neuronms, интестинальные ганглионейромы, гиперпластическая опухоль роговичного нерва, опухоль marfanoid habitus (марфаноидный внешний вид), опухоль Вильма, семинома, опухоль яичника, лейомиома, дисплазия и in situ карцинома шейки матки, нейробластома, ретинобластома, карцинома мягких тканей, злокачественный карциноид, местные поражения кожи, рак желудочно-кишечного тракта, злокачественные опухоли крови, миелодиспластический синдром, грибковые микозы, рабдомиосаркома, астроцитомы, неходжкинская лимфома, саркома Капоши, остеогенная и другие саркомы, злокачественная гиперкальцемия, гипернефрома, истинная полицитемия, аденокарцинома, мультиформная глиобластома, глиома, лейкемия (включая острую миелогенную лейкемию, хроническую миелогенную лейкемию, хроническую лимфоцитарную лейкемию), лимфомы, злокачественные меланомы, плоскоклеточные карциномы и другие саркомы.

Ингибиторы HSP90 согласно настоящему изобретению можно также использовать для лечения абнормальной пролиферации клеток вследствие повреждения тканей в ходе хирургического вмешательства. Такие повреждения могут возникать в результате разнообразных хирургических процедур, таких как операции на суставах, операции на кишечнике и образование келоидных рубцов. Заболевания, которые вызывают образование фиброзной ткани, включают эмфизему. Нарушения в результате повторяющихся движений, которые можно лечить согласно настоящему изобретению, включают синдром запястного туннеля. Пример нарушения, связанного с пролиферацией клеток, которое можно лечить согласно настоящему изобретению, включает рак кости.

Пролиферативные реакции, связанные трансплантацией органов, которые можно лечить с использованием ингибиторов HSP90 согласно настоящему изобретению, включают пролиферативные ответы, которые вносят вклад в возможное отторжение органа или связанные с ним осложнения. В частности, такие пролиферативные реакции могут возникать в ходе трансплантации сердца, легкого, печени, почки и других органов или систем тела.

Аномальный ангиогенез, который можно лечить с использованием настоящего изобретения, включает аномальный ангиогенез, сопровождающий ревматоидный артрит, ишемически-реперфузионный отек и повреждение мозга, ишемию коры, гиперплазию и гиперваскуляризацию яичников (синдром поликистозных яичников), эндометриоз, псориаз, диабетическую ретинопатию и другие ангиогенные заболевания глаз, такие как ретинопатия недоношенных (ретролентальная фиброплазия)

дегенерация желтого пятна, отторжение трансплантата роговицы, неоваскулярная глаукома и синдром Остера-Вебера.

Примеры связанных с неконтролируемым ангиогенезом заболеваний, которые можно лечить согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются перечисленными, неоваскуляризацию сетчатки/сосудистой оболочки и неоваскуляризацию роговицы. Примеры неоваскуляризации сетчатки/сосудистой оболочки включают, но не ограничиваются перечисленными, заболевания Бетца (Bests) миому, ямки диска зрительного нерва, болезнь Старгарта, Болезнь Педжета, окклюзию вен, окклюзию артерий, серповидно-клеточную анемию, саркоид, сифилис, эластическую псевдоксантому, каротидную обструкцию, хронический увеит, витрит, микобактериальные инфекции, болезнь Лайма, системную красную волчанку, ретинопатию недоношенных, болезнь Илза, диабетическую ретинопатию, дегенерацию желтого пятна, болезнь Бекета, инфекции, вызывающие ретинит или воспаление сосудистой оболочки глаза, возможно гистоплазмоз, промежуточный увеит (*pars planitis*), хроническое отслоение сетчатки, синдромы гипервязкости, травмы и осложнения после вмешательства с использованием лазера, заболевания, связанные с неоваскуляризацией угла глаза, и заболевания, вызванные аномальной пролиферацией сосудисто-волоконистой или фиброзной ткани, включая все формы витреоретинопатии. Примеры неоваскуляризации роговицы включают, но не ограничиваются перечисленными, эпидемический кератоконъюнктивит, дефицит витамина А, переутомление от контактных линз, аропический кератит, верхний лимбальный кератоконъюнктивит, сухой кератоконъюнктивит, синдром Сьергена, красные угри, фликтенулез, диабетическая ретинопатия, ретинопатия недоношенных, отторжение трансплантата роговицы, язва Мурена, краевая дегенерация Террье, краевой кератолиз, полиартерит, саркоидоз Вегенера, воспаление склеры, пемфигоид, радиальная кератотомия, неоваскулярная глаукома и ректрорентальная фиброплазия, сифилис, инфекция микобактериями, жировое перерождение, химические ожоги, грибковые изъязвления, инфекция простым вирусом Герпеса, инфекция вирусом опоясывающего герпеса, инфекция, вызванная простейшими и саркома Капоши.

Хронические воспалительные заболевания, связанные с неконтролируемым ангиогенезом, также можно лечить ингибиторами HSP90 согласно настоящему изобретению. Хроническое воспаление зависит от непрерывного прорастания капилляров, которое обеспечивает приток клеток воспаления. Приток и присутствие клеток воспаления обеспечивает образование гранулем и таким образом поддерживает состояние хронического воспаления. Подавление ангиогенеза при помощи ингибитора HSP90 или в комбинации с другими противовоспалительными агентами могут предотвратить образование гранулем и таким образом облегчат заболевание. Примеры хронических воспалительных заболеваний включают, но не ограничиваются перечисленными, воспалительные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона и язвенный колит, псориаз, саркоидит и ревматоидный артрит.

Воспалительные заболевания кишечника, такие как болезнь Крона и язвенный колит, характеризуются хроническим воспалением и ангиогенезом в различных отделах желудочно-кишечного тракта. Например, болезнь Крона возникает в форме трансмурального воспалительного заболевания, которое наиболее часто поражает дистальную подвздошную кишку и прямую кишку, но может возникать в любой части желудочно-кишечного тракта, от рта до ануса и перианальной области. Пациенты с болезнью Крона обычно страдают хронической диареей, ассоциированной с абдоминальной болью, лихорадкой, анорексией, потерей веса, а также вздутием живота. Язвенный колит также представляет собой хроническое, неспецифическое воспалительное и язвенное заболевание, возникающее в слизистой оболочки толстой кишки, и характеризуется кровавой диареей. Воспалительные заболевания кишечника обычно вызываются хроническим гранулематозным воспалением в желудочно-кишечном тракте, включающим образование новых сосудов, окруженных оболочкой из воспалительных клеток. Подавление ангиогенеза ингибиторами согласно настоящему изобретению, вероятно, обеспечит подавление образования новых капилляров и предотвращение образования гранулем. Воспалительные заболевания кишечника также имеют дополнительные кишечные проявления, такие как поражения кожи. Такие поражения характеризуются воспалением и ангиогенезом и могут возникать во многих участках вне желудочно-кишечного тракта. Ингибирование ангиогенеза ингибиторами HSP90 согласно настоящему изобретению может снизить приток клеток воспаления и предотвратить образование повреждений.

Саркоидит, другое воспалительное заболевание, характеризуется как мультисистемное гранулематозное нарушение. Гранулемы при этом заболевании могут образовываться в любом участке тела. Соответственно, симптомы зависят от участка с гранулемами, от активности заболевания. Гранулемы образованы разрастаниями капилляров, которые обеспечивают постоянную доставку питания клеткам воспаления. Применение ингибиторов HSP90 согласно настоящему изобретению для подавления ангиогенеза может привести к подавлению образования таких гранулем. Псориаз, который также является хроническим воспалительным рецидивирующим заболеванием, характеризуется папулами и бляшками различного размера. Лечение с использованием таких ингибиторов отдельно или в комбинации с противовоспалительными агентами, вероятно, обеспечит предотвращение образования новых кровеносных сосудов, необходимых для поддержания характерных поражений и облегчение симптомов у пациента.

Ревматоидный артрит (РА) также представляет собой хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся неспецифическим воспалением периферических суставов, считают, что кровеносные

сосуды в синовиальной выстилке также претерпевают ангиогенез. В дополнение к образованию новых сосудистых сетей, клетки эндотелия высвобождают факторы и активные молекулы кислорода, что приводит к росту паннуса и разрушению хряща. Факторы, вовлеченные в ангиогенез, могут активно участвовать и способствовать поддержанию состояния хронического воспаления при ревматоидном артрите. Лечение с использованием ингибиторов HSP90 согласно настоящему изобретению отдельно или в комбинации с антиревматоидными агентами, возможно, обеспечит предотвращение образования новых кровеносных сосудов, необходимых для поддержания хронического воспаления и обеспечат облегчение симптомов у пациента, страдающего РА.

Комбинированная терапия.

Разнообразные терапевтические агенты могут оказывать действие, аддитивное или синергетическое действию ингибиторов HSP90 согласно настоящему изобретению. Комбинированные средства терапии, которые включают один или более соединений согласно настоящему изобретению с одним или более другими терапевтическими агентами, можно использовать, например, для: 1) усиления терапевтического эффекта (эффектов) одного или более соединений согласно настоящему изобретению и/или указанных одного или более терапевтических агентов; 2) снижения побочных эффектов одного или более соединений согласно настоящему изобретению и/или указанных одного или более терапевтических агентов; и/или 3) снижения эффективной дозы одного или более соединений согласно настоящему изобретению и/или указанных одного или более терапевтических агентов. Следует отметить, что комбинированная терапия включает случай, когда агенты вводят до или после друг друга (последовательное введение), а также случай, когда агенты вводят одновременно.

Примеры таких терапевтических агентов, которые можно использовать в комбинации с ингибиторами HSP90, включают, но не ограничиваются перечисленными, средства против пролиферации клеток, противораковые агенты, алкилирующие агенты, антибиотические агенты, гормональные агенты, агенты растительного происхождения и биологические агенты.

Средства против пролиферации клеток (антипролиферативные агенты) - это агенты, которые подавляют нежелательную и неконтролируемую пролиферацию клеток. Примеры антипролиферативных агентов, которые можно использовать в комбинации с ингибиторами HSP90 согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются перечисленными, ретиноидную кислоту и ее производные, 2-метоксиэстрадиол, белок ANGIOSTATIN™, белок ENDOSTATIN™, сурамин, скваламин, тканевый ингибитор металлопротеиназы-1, тканевый ингибитор металлопротеиназы-2, ингибитор активатора плазминогена-1, ингибитор активатора плазминогена-2, хрящевой ингибитор, паклитаксел, тромбоцитарный фактор 4, протамин сульфат (клубеин), сульфатированные производные хитина (полученные из панциря краба-стригуна), сульфатированный комплекс полисахарид-пептидогликан (sp-pg), стауроспорин, модуляторы метаболизма матрикса, включая, например, аналоги пролина (L-азетедин-2-карбоновая кислота (LACA)), цисгидроксипролин, d,l-3,4-дегидропролин, тиетролин, бета-аминопропионитрил фумарат, 4-пропил-5-(4-пиридинил)-2(3H)-оксазолон, метотрексат, митоксантрон, гепарин, интерфероны, 2-макроглобулин-сыворотка, chimp-3, химостатин, бета-циклодекстрин тетрадекасульфат, эпонемицин; фумагиллин, золота натрий-тиомалат d-пеницилламин (CDPT), бета-1-антиколлагеназа-сыворотка альфа-2-антиплазмин, бисантрен, лобензарит динатрий, п-2-карбоксифенил-4-хлорантропиловой кислоты динатрий или "ССА", талидомид, ангостатический стероид, карбоксиаминоимидазол, ингибиторы металлопротеиназ, такие как BB94. Другие антиангиогенные агенты, которые можно применять, включают антитела, предпочтительно моноклональные антитела к следующим ангиогенным факторам роста: bFGF, aFGF, FGF-5, изоформы VEGF, VEGF-C, HGF/SF и Ang-1/Ang-2. Ferrara N. and Alitalo, K. "Clinical application of angiogenic growth factors and their inhibitors" (1999), Nature Medicine, 5:1359-1364.

Алкилирующие агенты представляют собой многофункциональные соединения, которые обладают способностью замещать ионы водорода алкильными группами. Примеры алкилирующих агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, бисхлорэтиламины (азотсодержащие иприты, например хлорамбуцил, циклофосамид, изосфамид, мехлорэтамин, мелфалан, уроиприт), азиридины (например, тиотепа), алкил алкон сульфаты (например, бусульфат), нитрозомочевины (например, крамустин, ломустин, стрептозоцин), неклассические алкилирующие агенты (алтретамин, декарбазин и прокарбазин), соединения платины (карбоплатин и цисплатин). Указанные соединения реагируют с фосфат-, amino-, гидроксил-, сульфгидрильной, карбоксильной и имидазольной группами. В физиологических условиях указанные лекарственные средства ионизируются и образуют положительно заряженный ион, который присоединяется к чувствительным нуклеиновым кислотам и белкам, что приводит к блокированию клеточного цикла и/или гибели клеток. Комбинированные терапевтические средства, включающие ингибитор HSP90 и ингибирующий агент, возможно будут оказывать синергетическое действие на раковую опухоль и обеспечивать побочные эффекты, связанные с этими химиотерапевтическими агентами.

Антибиотические агенты представляют собой группу лекарственных средств, получаемых аналогично антибиотикам путем модификации природных продуктов. Примеры антибиотических агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, антрациклины (например, доксорубин, даунорубин, эпирубин, идарубин и антрацендион), митомицин С, блеомицин, дактиномицин, пликатомицин. Такие антибиотические агенты нарушают рост клеток путем направленного воздействия на различ-

ные компоненты клетки. Например, считается, что антрациклины воздействуют на активность ДНК топоизомеразы II в областях транскрипционно активной ДНК, что приводит к появлению разрывов в нитях ДНК. Считается, что блеомицин хелатирует железо и образует активированный комплекс, который затем связывается с основаниями ДНК, что приводит к разрывам нитей и гибели клеток. Комбинированная терапия, включающая ингибитор HSP90 и антибиотический агент, возможно будет оказывать синергетическое действие на раковую опухоль и снижать побочные эффекты, связанные с указанными химиотерапевтическими агентами.

Антиметаболические агенты представляют собой группу лекарственных средств, которые воздействуют на метаболические процессы, жизненно важные для физиологии и пролиферации раковых клеток. Активно пролиферирующим клеткам необходим непрерывный синтез больших количеств нуклеиновых кислот, белков, жиров и других жизненно важных компонентов клетки. Многие антиметаболиты ингибируют синтез пуриновых или пиримидиновых нуклеозидов или ингибируют ферменты репликации ДНК. Некоторые антиметаболиты воздействуют на синтез нуклеозидов и РНК RNA и/или метаболизм аминокислот, а также синтез белков. Нарушая синтез жизненно необходимых компонентов клетки, антиметаболиты могут замедлить или блокировать рост раковых клеток. Примеры антиметаболических агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, фторурацил (5-FU), флоксуридин (5-FUdR), метотрексат, лейковорин, гидроксимочевину, тиогуанин (6-TG), меркаптопурин (6-MP), цитрабин, пентостатин, флударабин фосфат, кладрибин (2-CDA), аспарагиназу и гемцитабин. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и антиметаболический агент, может оказывать синергетическое воздействие на раковые опухоли и снижать побочные эффекты, связанные с указанными химиотерапевтическими агентами.

Гормональные агенты представляют собой группу лекарственных средств, которые регулируют рост и развитие соответствующих органов-мишеней. Большинство гормональных агентов составляет группа из половых стероидов и их аналогов и производных, таких как эстрогены, андрогены и прогестины. Эти гормональные агенты могут служить антагонистами рецепторов половых гормонов и снижать экспрессию рецепторов и транскрипцию жизненно важных генов. Примерами таких гормональных агентов являются синтетические эстрогены (например, диэтилстибестрол), антиэстрогены (например, тамоксифен, торемифен, флуоксиместерол и ралоксифен), антиандрогены (бикалутамид, нилутамид и длютамид), ингибиторы ароматазы (например, аминоглютетимид, анастрозол и тетразол), каптоконазол, гозерелин ацетат, лейпролин, манэстрол ацетат и мифепрестон. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и гормональный агент, может оказывать синергетическое воздействие на раковое заболевание и снижать побочные эффекты, связанные с указанными химиотерапевтическими агентами.

Агенты растительного происхождения представляют собой группу лекарственных средств, которые получены из растений или модифицированы на основании молекулярной структуры таких агентов. Примеры агентов растительного происхождения включают, но не ограничиваются перечисленными, алкалоиды барвинка (например, винкристин, винбластин, виндезин, винзолидин и винорелбин), подофиллотоксины (например, этопозид (VP-16) и тенипозид (VM-26)) и таксаны (например, паклитаксел и доцетаксел). Эти агенты растительного происхождения обычно действуют как антимитотические агенты, которые связывают тубулин и подавляют митоз. Считается, что подофиллотоксины, такие как этопозид, нарушают синтез ДНК путем взаимодействия с топоизомеразой II, что приводит к разрывам нити ДНК. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и агент растительного происхождения, может оказывать синергетическое воздействие на рак и снижать побочные эффекты, связанные с указанными химиотерапевтическими агентами.

Биологические агенты представляют собой группу агентов, которые вызывают обратное развитие ракового заболевания/опухоли при использовании отдельно или в комбинации с химиотерапией и/или радиотерапией. Примеры биологических агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, иммуномодулирующие белки, такие как цитокины, моноклональные антитела к антигенам опухолей, гены-супрессоры опухолей и противораковые вакцины. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и биологический агент, может оказывать синергетическое воздействие на рак, усиливать иммунные реакции пациента на опухолевые сигналы и снижать побочные эффекты, связанные с указанными химиотерапевтическими агентами.

Цитокины обладают мощной иммуномодулирующей активностью. Некоторые цитокины, такие как интерлейкин-2 (IL-2, альдеслейкин) и интерферон, продемонстрировали противоопухолевую активность и были одобрены для лечения пациентов с метастазирующей карциномой почки и метастазирующей злокачественной меланомой. IL-2 представляет собой фактор роста T-лимфоцитов, который играет центральную роль в опосредуемых T-лимфоцитами иммунных ответах. Считается, что селективное действие IL-2 на некоторых пациентов является результатом клеточного иммунного ответа, который отличает "свое" от "чужого". Примеры интерлейкинов, которые можно использовать в комбинации с ингибиторами HSP90, включают, но не ограничиваются перечисленными, интерлейкин-2 (IL-2), а также интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-12 (IL-12).

Интерферон включает более 23 родственных подтипов с перекрывающимися активностями, причем

каждый из подтипов ИФН включен в объем настоящего изобретения. ИФН продемонстрировал активность в отношении солидных опухолей и злокачественных заболеваний крови, причем последние оказались особенно чувствительными.

Другие цитокины, которые можно использовать в комбинации с ингибитором HSP90, включают цитокины, которые демонстрируют глубокое воздействие на гематопоез и иммунные функции. Примеры таких цитокинов включают, но не ограничиваются перечисленными, эритропоэтин, гранулоцит-CSF (филграстин), колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (саргамостим). Эти цитокины можно использовать в комбинации с ингибитором HSP90 для снижения индуцированной химиотерапией миелопозитической токсичности.

Также в комбинации с ингибитором HSP90 можно использовать другие иммуномодулирующие агенты, не относящиеся к цитокинам. Примеры таких иммуномодулирующих агентов включают, но не ограничиваются перечисленными, бациллу Кальметта-Герена, левамизол и октреодит, октапептид продолжительного действия, который имитирует эффекты природного гормона соматостатина.

Моноклональные антитела к антигенам опухолей - это антитела, вырабатываемые в ответ на антигены, экспрессируемые опухолями, предпочтительно опухоль-специфичные антигены. Например, моноклональное антитело HERCEPTIN® (Трастузумаб, Trastuzumab) вырабатывается к рецептору 2 эпидермального фактора роста человека 2 (HER2), экспрессия которого повышена в некоторых опухолях молочной железы, включая метастазирующий рак молочной железы. Повышенная экспрессия белка HER2 ассоциирована с более агрессивным заболеванием и более неблагоприятным клиническим прогнозом. HERCEPTIN® используется в качестве агента монотерапии для лечения пациентов с метастазирующим раком молочной железы, при котором экспрессия белка HER2 опухолью повышена. Комбинированная терапия, включающая ингибитор HSP90 и HERCEPTIN®, может оказывать синергетическое воздействие на опухоли, в частности на метастатические раковые опухоли.

Другим примером моноклональных антител к антигенам опухоли является RITUXAN® (ритуксимаб), которые вырабатывается в ответ на CD20 на клетках лимфомы и селективно снижает количество нормальных и злокачественных CD20⁺ пре-В и зрелых В-лимфоцитов. RITUXAN® используют отдельно для лечения пациентов с рецидивирующей или рефрактерной низкодифференцированной или фолликулярной CD20⁺, В-клеточной неходжкинской лимфомой. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и RITUXAN® возможно будет оказывать синергетическое воздействие не только на лимфому, но также на другие виды и типы злокачественных опухолей.

Гены-супрессоры опухолей представляют собой гены, которые подавляют рост клеток и циклы деления, предотвращая, таким образом, развитие новообразования. Мутации в генах-супрессорах опухолей приводят к тому, что клетки не реагируют на один или более компонентов сети ингибирующих сигналов, преодолевают контрольные точки клеточного цикла, что приводит к более интенсивному контролируемому росту клеток - раку. Примеры генов-супрессоров опухолей включают, но не ограничиваются перечисленными, DPC-4, NF-1, NF-2, RB, p53, WT1, BRCA1 и BRCA2. DPC-4 участвует в развитии рака поджелудочной железы и участвует в цитоплазматических механизмах подавления деления клеток. NF-1 кодирует белок, который подавляет Ras, ингибиторный белок цитоплазмы. NF-1 участвует в развитии нейрофибром и феохромоцитом нервной системы, а также миелоидной лейкемии. NF-2 кодирует ядерный фактор, который участвует в развитии менингиомы, шванномы и эпендиомы нервной системы. RB кодирует белок pRB, ядерный фактор, который является основным ингибитором клеточного цикла. RB участвует в развитии ретинобластомы, а также рака кости, мочевого пузыря, мелкоклеточного рака легкого, а также рака молочной железы. p53 кодирует белок p53, который регулирует деление клеток и может вызвать апоптоз. Мутации и/или инактивация p53 обнаруживаются в разнообразных раковых опухолях. WT1 участвует в развитии опухоли Вильмса (рак почки). BRCA1 участвует в развитии рака молочной железы и яичников, а BRCA2 участвует в развитии рака молочной железы. Гены-супрессоры опухолей могут быть перенесены в клетки опухолей, где они осуществляют свою функцию по подавлению опухоли. Комбинированное терапевтическое средство, включающее ингибитор HSP90 и супрессор опухоли, возможно, будет оказывать синергетические эффекты на пациентов с различными раковыми опухолями.

Противораковые вакцины представляют собой группу агентов, которые вызывают специфический иммунный ответ организма на опухоли. Большинство исследуемых, разрабатываемых и проходящих клинические испытания противораковых вакцин представляют собой опухоль-ассоциированные антигены (ТАА). ТАА - это структуры (т.е. белки, ферменты или углеводы), которые присутствуют на опухолевых клетках или отсутствуют или присутствуют в меньших количествах на нормальных клетках. Благодаря тому что эти структуры являются достаточно уникальными для клеток опухоли, ТАА обеспечивают мишени, которые иммунная система может распознавать и разрушать. Примеры ТАА включают, но не ограничиваются перечисленными, ганглиозиды (GM2), простата-специфичный антиген (PSA), α -фетопrotein (AFP), онкофетальный антиген (CEA) (продуцируемый опухолями толстой кишки и другими, например опухолями молочной железы, легкого, желудка и поджелудочной железы), антигены, ассоциированные с меланомой (MART-1, gp100, MAGE 1,3 тирозиназа), фрагменты E6 и E7 папилломавиру-

са, целые клетки или части/лизаты антологичных клеток опухоли и аллогенных клеток опухоли.

Для усиления иммунного ответа на ТАА можно использовать адъювант. Примеры адъювантов включают, но не ограничиваются перечисленными, бациллу Кальметта-Герена (BCG), эндотоксины-липополисахариды, гемоцианин улитки (GKLH), интерлейкин-2 (IL-2), колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF) и цитоксан, химиотерапевтический агент, который в низких дозах, как считают, снижает индуцируемую опухолью иммуносупрессию.

Композиции, включающие ингибиторы HSP90.

В сочетании с соединениями согласно настоящему изобретению можно использовать разнообразные композиции и пути введения. Такие композиции могут включать в дополнение к соединению согласно настоящему изобретению обычные фармацевтические наполнители и другие фармацевтически неактивные агенты. Дополнительно, композиции могут включать активные агенты в дополнение к соединениям согласно настоящему изобретению. Такие дополнительные агенты могут включать дополнительные соединения согласно настоящему изобретению и/или один или более других фармацевтических агентов.

Композиции могут иметь газообразную, жидкую, полужидкую или твердую форму и изготовлены таким образом, чтобы быть пригодными для выбранного пути введения. Для перорального введения обычно используют капсулы и таблетки. Для парентерального введения обычно используют восстановленные лиофилизированные порошки, приготовленные, как описано в настоящем патенте.

Композиции, включающие соединения согласно настоящему изобретению, можно вводить или вводить совместно перорально, парентерально, интраперитонеально, внутривенно, внутриартериально, трансдермально, сублингвально, через слизистые, ректально, трансбуккально, интраназально, с использованием липосом, путем ингаляции, вагинально, в глаз, путем местной доставки (например, при помощи катетера или стента), подкожно, в жировую ткань, в сустав или в трахею. Соединения и/или композиции согласно настоящему изобретению можно также вводить или вводить совместно в лекарственных формах с замедленным высвобождением.

Ингибиторы HSP90 и включающие их композиции можно вводить или вводить совместно в любой стандартной лекарственной форме. Совместное введение в контексте настоящего изобретения обозначает введение более одного терапевтических агентов, один из которых включает ингибитор HSP90, в ходе согласованного лечения для достижения улучшенного клинического результата. Такое совместное введение может быть одновременным, т.е. происходить в перекрывающиеся периоды времени.

Растворы или суспензии, используемые для парентерального, внутрикожного, подкожного или топического введения, могут необязательно включать один или более из следующих компонентов: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, солевой раствор, нелетучее масло, полиэтиленгликоль, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антимикробные агенты, такие как бензиловый спирт и метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и бисульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); буферы, такие как ацетаты, цитраты и фосфаты; средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза, и средства для регулирования кислотности и щелочности композиции, такие как щелочные или кислые агенты, например карбоната, бикарбоната, фосфаты, соляная кислота и органические кислоты, такие как уксусная кислота и лимонная кислота. Препараты для парентерального введения могут быть дополнительно заключены в ампулы, одноразовые шприцы или сосуды, содержащие одну или множество доз, выполненные из стекла, пластика или другого подходящего материала.

В случае, когда соединения согласно настоящему изобретению недостаточно растворимы, можно использовать методы солюбилизации соединений. Такие методы известны специалистам и включают, но не ограничиваются перечисленными, использование соразтворителей, таких как диметилсульфоксид (ДМСО), использование поверхностно-активных веществ, таких как TWEEN, или растворение в водном бикарбонате натрия. Производные соединений, такие как пролекарства соединений, также можно использовать для изготовления эффективных фармацевтических композиций.

После смешивания или добавления соединений согласно настоящему изобретению в композицию возможно образуется раствор, суспензия, эмульсия или нечто подобное. Форма полученной композиции будет зависеть от ряда факторов, включая предполагаемый путь введения и растворимость соединения в выбранном носителе или среде. Эффективная концентрация, необходимая для снижения выраженности заболевания, которое лечат, может быть определена эмпирическим путем.

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть необязательно представлены в виде лекарственных форм для введения человеку и животным, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, сухие порошки для ингаляторов, гранулы, стерильные растворы или суспензии для парентерального введения, растворы и суспензии для перорального введения, эмульсии вода-масло, содержащие подходящее количество соединений, в частности фармацевтически приемлемых солей соединений. Фармацевтически терапевтически активные соединения обычно изготавливают и вводят в виде лекарственных форм, содержащих одну дозу или множество доз. Лекарственные формы, содержащие одну дозу, в настоящем описании включают физически раздельные объекты, пригодные для введения животным и человеку и упакованные, как принято в данной области. Каждая единичная доза содержит заранее определенное

количество терапевтически активного соединения, достаточное для того, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект, в комбинации с необходимым фармацевтическим носителем, средой или разбавителем. Примеры лекарственных форм, содержащих одну дозу, включают ампулы и шприцы, отдельно упакованные таблетки и капсулы. Лекарственные формы, содержащие одну дозу, можно вводить частями или по несколько. Лекарственные формы, содержащие множество форм, представляют собой множество идентичных форм, содержащих одну дозу, упакованных в один контейнер для введения отдельных форм с одной дозой. Примеры лекарственных форм, содержащих множество доз, включают сосуды и бутылки таблеток или капсул или бутылок объемом пинта или галлон. Таким образом, лекарственная форма, содержащая множество доз, представляет собой множество лекарственных форм, содержащих одну дозу, которые не разделены в упаковке.

В дополнение к одному или более соединениям согласно настоящему изобретению композиция может включать разбавитель, такой как лактоза, сахароза, дикальция фосфат или карбоксиметилцеллюлоза; смазывающее вещество, такое как стеарат магния, стеарат кальция и тальк; и связующее вещество, такое как крахмал, натуральные смолы, гуммиарабик, желатин, глюкоза, молассы, поливинилпирролидон, целлюлозы и их производные, повидон, кроссповидоны и другие подобные связующие вещества, известные специалистам. Жидкие композиции для фармацевтического применения могут, например, быть приготовлены путем растворения, диспергирования или другого вида смешивания определенного выше активного соединения и необязательных фармацевтических вспомогательных веществ, таких как носители, например вода, физ. раствор, водный раствор декстрозы, гликоли, этанол и т.п., с образованием растворов или суспензий. При желании, фармацевтическая композиция для введения может содержать незначительные количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие агенты или солюбилизующие агенты, эмульгирующие агенты, pH-буферные агенты, такие как, например, ацетат, цитрат натрия, производные циклодекстрина, сорбитан монолаурат, триэтаноламин натрия ацетат, триэтаноламин олеат и другие подобные агенты. Актуальные способы получения таких лекарственных форм известны или будут очевидны для специалиста в соответствующей области; например, см. Remington: The Science and Practices of Pharmacy, Lippincott Williams, and Wilkins Publisher, 21st edition, 2005. Композиции и составы для введения будут в любом случае содержать количество ингибитора по настоящему изобретению, достаточное для снижения активности HSP90 *in vivo*, и, таким образом, обеспечения лечения болезненного состояния субъекта.

Лекарственные формы или композиции могут необязательно включать одно или более соединений согласно настоящему изобретению в диапазоне от 0.005 до 100% (мас./мас.), а также дополнительные вещества, такие как вещества, указанные в настоящем описании. Для перорального применения фармацевтически приемлемая композиция может необязательно включать любой один или более используемых обычно наполнителей, таких как, например, маннитол, лактоза, крахмал, стеарат магния, тальк, производные целлюлозы, натрий-кроскармеллозу, глюкозу, сахарозу, карбонат магния, стеарин натрия, тальк фармацевтического качества. Такие композиции включают растворы, суспензии, таблетки, порошки, сухие порошки для ингаляторов и составы с замедленным высвобождением, такие как, но не ограничиваясь перечисленными, импланты и микроинкапсулированные системы доставки, биоразрушаемые и биосовместимые полимеры, такие как коллаген, этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, полиортоэферы, полимолочная кислота и др. Способы приготовления таких составов известны специалистам в соответствующей области. Композиции могут необязательно включать 0.01-100% (мас./мас.) одного или более ингибиторов HSP90, возможно 0.1-95%, и возможно 1-95%.

Соли, предпочтительно натриевые соли, могут быть приготовлены с носителями, носителей, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, например составы или оболочки с контролируемым высвобождением. Составы могут дополнительно включать другие активные соединения, что обеспечит желаемые комбинации свойств.

А. Составы для перорального введения.

Лекарственные формы для перорального введения могут быть твердыми, гелеобразными или жидкими. Примеры твердых лекарственных форм включают, но не ограничиваются перечисленными, таблетки, капсулы, гранулы и нерасфасованные порошки. Более конкретные примеры таблеток для перорального применения включают прессованные жевательные пастилки и таблетки, которые могут быть покрыты оболочкой, растворяющейся в кишечнике, сахаром или пленкой. Гранулы и порошки могут быть представлены в нешипучей и шипучей формах. Каждый из вышеперечисленных ингредиентов можно комбинировать с ингредиентами, известными в соответствующей области.

В некоторых вариантах осуществления соединения согласно настоящему изобретению производятся в твердой лекарственной форме, предпочтительно в форме капсул или таблеток. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут необязательно содержать один или более из следующих ингредиентов или соединений сходной природы: связующий компонент; разбавитель; дезинтегратор; лубрикант; вещество, улучшающее скольжение; подсластитель и вкусовую добавку.

Примеры связующих компонентов, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь, раствор глюкозы, растительная слизь акации, раствор желатина, сахарозы и крахмальный клейстер.

Примеры лубрикантов, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: тальк, крахмал, магния или кальция стеарат, ликоподиевая кислота и стеариновая кислота.

Примеры разбавителей, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: лактоза, сахароза, крахмал, каолин, соль, маннитол и дикальций фосфат.

Примеры глидантов, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: коллоидный диоксид кремния.

Примеры улучшителей распадаемости, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: кроскамеллоза натрия, карбоксиметилкрахмал натрия, альгиновая кислота, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, бентонит, метилцеллюлоза, агар и карбоксиметилцеллюлоза.

Примеры красящих добавок, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, любые из красителей для пищевых и косметических продуктов, их смесей; и суспензия водорастворимых красителей классов FD и C в гидратированном оксиде алюминия.

Примеры подсластителей, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующее: сахароза, лактоза, маннитол и искусственные подсластители, такие как цикламат натрия и сахарин, и любое количество высушенных распылением вкусовых добавок.

Примеры вкусовых добавок, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, натуральные вкусовые добавки, экстрагированные из растений, таких как фрукты, и синтетические смеси, обладающие приятным вкусом, такие как, но не ограничивающиеся ими, перечная мята и метилсалицилат.

Примеры смачивающих агентов, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, пропиленгликоль моностеарат, сорбитан моноолеат, диэтиленгликоль монолаурат, полиоксиэтилен лаурил эфир.

Примеры противорвотных покрытий, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, жирные кислоты, жиры, мази, шеллак, насыщенный аммиаком шеллак и ацетатфталат целлюлозы.

Примеры пленочных покрытий, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, гидроксипропилцеллюлозу, натрия карбоксиметилцеллюлозу, полиэтиленгликоль 4000 и ацетатфталат целлюлозы.

Если желательно пероральное введение, соль данного соединения может быть необязательно получена в композиции, защищающей ее от воздействия кислой среды желудка. Например, композиция может быть произведена в кишечнорастворимой оболочке, которая поддерживает ее целостность в желудке и высвобождает активное соединение в кишечнике. Композиция также может быть получена в комбинации с антацидным или другим подобным ингредиентом.

В случае если единицей лекарственной формы является капсула, она может необязательно дополнительно включать жидкий носитель, такой как жирное масло. В дополнение, единицы лекарственной формы могут необязательно дополнительно содержать различные другие материалы, которые изменяют физическую форму единицы лекарственной формы, например, покрытия из сахара или других энтеральных агентов.

Соединения согласно настоящему изобретению также можно вводить в качестве компонента эликсира, суспензии, сиропа, облатки, разбрызгиваемой жидкости, жевательной резинки или других. Сироп может необязательно содержать, в дополнение к активным соединениям, сахарозу в качестве подсластителя и определенные консерванты, красители, красящие добавки и вкусовые добавки.

Соединения согласно настоящему изобретению могут также быть перемешаны с другими активными материалами, которые не обладают нужным действием, или с материалами, которые дополняют нужное действие, такие как антациды, H₂ блокаторы и диуретики. Например, если соединение используют для лечения астмы или гипертензии, оно может быть использовано с другими бронхорасширяющими и противогипертензивными средствами соответственно.

Примеры фармацевтически приемлемых носителей, которые могут входить в состав таблеток, содержащих соединения согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются перечисленными, связующие компоненты, лубриканты, разбавители, дезинтеграторы, красящие добавки, вкусовые добавки и увлажнители. Таблетки, покрытые кишечнорастворимым покрытием, из-за кишечнорастворимого покрытия не подвержены воздействию кислот желудка и растворяются или распадаются в нейтральной или щелочной среде кишечника. Таблетки с сахарным покрытием могут быть прессованными таблетками, к которым присоединяют различные слои фармацевтически приемлемых веществ. Таблетки, покрытые пленкой, могут быть прессованными таблетками, покрытыми полимером или другим подходящим покрытием. Различные прессованные таблетки могут быть прессованными таблетками, полученными с помощью одного или более циклов компрессии, использующих фармацевтически приемлемые вещества, упомянутые ранее. Красящие вещества могут также применяться при производстве таблеток. Вкусовые добавки и подсластители могут применяться при производстве таблеток, и особенно полезны при производстве жевательных таблеток и пастилок.

Примеры жидких пероральных лекарственных форм, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, водные растворы, эмульсии, суспензии, растворы и/или суспензии, восстановленные из нешипучих гранул, и шипучие препараты, восстановленные из шипучих гранул.

Примеры водных растворов, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются перечисленными, эликсиры и сиропы. Здесь термин "эликсиры" относится к прозрачным, подслащенным, водно-спиртовым препаратам. Примеры фармацевтически приемлемых носителей, которые можно использовать в эликсирах, включают, но не ограничиваются перечисленными, сольвенты. Частные примеры сольвентов, которые можно использовать, включают глицерин, сорбитол, этиловый спирт и сироп. Здесь термин "сиропы" относится к концентрированным водным растворам сахара, например сахарозе. Сиропы могут необязательно также содержать консерванты.

Термин "эмульсии" относится к двухфазным системам, в которых одна жидкость распределена в форме маленьких шариков в другой жидкости. Эмульсии могут необязательно быть эмульсиями типа "масло в воде" и типа "вода в масле". Примеры фармацевтически приемлемых носителей, которые можно использовать в эмульсиях, включают, но не ограничиваются перечисленными, не водные жидкости, эмульгирующие агенты и консерванты.

Примеры фармацевтически приемлемых веществ, которые можно использовать в нешипучих гранулах, из которых восстанавливают жидкую оральную лекарственную форму, включают разбавители, подсластители и увлажнители.

Примеры фармацевтически приемлемых веществ, которые можно использовать в шипучих гранулах, из которых восстанавливают жидкую оральную лекарственную форму, включают органические кислоты и источник двуокиси углерода.

Подкрашивающие и вкусовые добавки могут необязательно использоваться во всех указанных выше лекарственных формах.

Частные примеры консервантов, которые можно использовать, включают глицерин, метил и пропилпарабен, бензойную кислоту, бензоат натрия и спирт.

Частные примеры не водных жидкостей, которые можно использовать в эмульсиях, включают минеральное масло и хлопковое масло.

Частные примеры эмульгирующих агентов, которые можно использовать, включают желатин, акацию, трагакант, бентонит и поверхностно-активные вещества, такие как полиоксиэтилен сорбитан моноолеат.

Частные примеры суспендирующих агентов, которые можно использовать, включают натрия карбоксиметилцеллюлозу, пектин, трагакант, вигум и акацию. Разбавители включают лактозу и сахарозу. Подсластители включают сахарозу, сиропы, глицерин и искусственные подсластители, такие как натрия цикламат и сахарин.

Частные примеры увлажнителей, которые можно использовать, включают пропиленгликоль моностеарат, сорбитан моноолеат, диэтилен гликоль монолаурат и полиоксиэтилен лаурил эфир.

Частные примеры органических кислот, которые можно использовать, включают лимонную кислоту и винную кислоту.

Источники двуокиси углерода, которые можно использовать, в шипучих композициях включают натрия бикарбонат и натрия карбонат. Красящие агенты включают любые из красителей для пищевых и косметических продуктов и их смесей.

Частные примеры вкусовых добавок, которые можно использовать, включают экстрагированные из растений, таких как фрукты, и синтетические смеси, обладающие приятным вкусом.

Для твердой лекарственной формы, раствора или суспензии, например в пропиленкарбонате, растительном масле или триглицеридах, такую форму предпочтительно заключают в твердую или мягкую желатиновую капсулу. Такие растворы, препараты и их формы в капсулах раскрыты в патентах США № 4328245; 4409239 и 4410545. Для жидкой лекарственной формы, раствора, например в полиэтиленгликоле, соединение может быть разбавлено достаточным количеством фармацевтически приемлемого жидкого носителя, например воды, чтобы обеспечить легкость дозирования для введения.

В альтернативном варианте жидкие или полутвердые составы для перорального введения могут быть приготовлены путем растворения или диспергирования активного соединения в растительных маслах, гликолях, триглицеридах, эфирах пропиленгликоля (например, пропиленкарбонате) и других подобных носителях, а также путем заключения таких растворов или суспензий в твердые или мягкие желатиновые оболочки капсул. Другие подходящие формы включают формы, раскрытые в патентах США № 28819 и 4358603.

В. Инъеклируемые составы, растворы и эмульсии.

Настоящее изобретение также относится к композициям, предназначенным для введения соединения согласно настоящему изобретению парентеральным путем, обычно характеризующимся подкожными, внутримышечными или внутривенными инъекциями. Композиции для введения путем инъекций могут быть получены в любой обычной форме, например в форме жидкого раствора или суспензии, твердых форм, пригодных для растворения или суспендирования в жидкости перед введением путем инъекции, или в форме эмульсий.

Примеры наполнителей, которые можно использовать в сочетании с композициями для введения путем инъекции согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются перечисленными, воду, физиологический раствор, декстрозу, глицерин и этанол. Композиции для введения путем инъекции могут необязательно включать небольшие количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, pH-буферные вещества, солюбилизаторы, стабилизаторы, вещества, улучшающие растворимость и другие подобные агенты, такие как, например, ацетат натрия, сорбитан монолаурат, триэтаноламин олеат и циклодекстрины. Также в настоящем изобретении предусмотрена имплантация систем с медленным высвобождением или продолжительным высвобождением, которые обеспечивают поддержание постоянного уровня дозировки (см., например, патент США 3710795). Процентная доля активного соединения, содержащегося в таких композициях для парентерального введения, в большой степени зависит от природы композиции, а также от активности соединения и потребностей субъекта.

Парентеральное введение составов включает внутривенное, подкожное и внутримышечное введение. Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы, готовые для введения путем инъекции, стерильные сухие растворимые продукты, такие как описанные в настоящем патенте лиофилизированные порошки, готовые для смешивания с растворителем перед введением, включая подкожные таблетки, стерильные суспензии, готовые для введения путем инъекции, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые для смешивания со средой непосредственно перед введением, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть либо водными, либо неводными.

В случае внутривенного введения, примеры подходящих носителей включают, но не ограничиваются перечисленными, физиологический раствор или фосфатный буферный раствор (ФБР) и растворы, содержащие загустители и солюбилизующие агенты, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль, а также их смеси.

Примеры фармацевтически приемлемых носителей, которые можно использовать в препаратах для парентерального введения, включают, но не ограничиваются перечисленными, водные среды, неводные среды, антимикробные агенты, изотонические агенты, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгирующие агенты, секвестрирующие или хелатирующие агенты, а также другие фармацевтически приемлемые вещества.

Примеры водных сред, которые можно использовать, включают раствор хлорид натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонический раствор декстрозы для инъекций, стерильную воду для инъекций, раствор Рингера для инъекций с лактатом и декстрозой.

Примеры неводных сред для парентерального введения, которые можно использовать, включают нелетучие масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и кокосовое масло.

В парентеральные препараты можно добавлять антимикробные агенты в бактериостатических или фунгистатических концентрациях, в частности, в случаях, когда такие препараты упакованы в контейнеры, содержащие множество доз, и таким образом предназначены для хранения и извлечения множества аликвот. Примеры антимикробных агентов, которые можно использовать, включают фенолы или крезолы, ртутные препараты, хлорбутанол, метиловый и пропиловый эфиры α -гидроксibenзойной кислоты, тимеросал, бензалкония хлорид и бензэтония хлорид.

Примеры изотонических агентов, которые можно использовать, включают хлорид натрия и декстрозу. Примеры буферов, которые можно использовать, включают фосфат и цитрат. Примеры антиоксидантов, которые можно использовать, включают бисульфат натрия. Примеры местных анестетиков, которые можно использовать, включают прокаин гидрохлорид. Примеры суспендирующих и диспергирующих агентов, которые можно использовать, включают натрий-карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропил метилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Примеры эмульгирующих агентов, которые можно использовать, включают Полисорбат 80 (TWEEN 80). Агенты, секвестрирующие или хелатирующие ионы металлов, включают ЭДТА.

Фармацевтические носители могут также необязательно включать этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешивающихся с водой сред и гидроксид натрия, серную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для контроля pH.

Концентрацию ингибитора в составе для парентерального введения можно регулировать таким образом, чтобы инъекция обеспечивала введение фармацевтически эффективного количества, обеспечивающего желаемый фармакологический эффект. Точная концентрация ингибитора и/или доза в конечном счете зависят от возраста, массы и состояния пациента или животного, как известно в соответствующей области.

Препараты для парентерального введения, содержащие одну дозу, могут быть упакованы в ампулу, склянку или шприц с иглой. Все препараты для парентерального введения должны быть стерильными, как известно в данной области.

Инъекционные формы могут быть предназначены для местного или системного введения. Обычно терапевтически эффективная доза содержит концентрацию от по меньшей мере около 0.1 до около 90% мас./мас. или более предпочтительно более 1% мас./мас. ингибитора HSP90 в ткани (тканях), кото-

рые лечат. Ингибиторы можно вводить за один прием или разделить на несколько более мелких доз и вводить через некоторые промежутки времени. Очевидно, что точная доза и продолжительность лечения будут зависеть от участка, в который композицию вводят парентерально, носителя и других факторов, которые могут быть определены экспериментально с использованием известных протоколов тестирования или путем экстраполяции экспериментальных данных *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что значения дозировок и концентраций также могут варьировать в зависимости от возраста субъекта, которого лечат. Дополнительно следует понимать, что конкретные режимы дозирования со временем может быть необходимо скорректировать, чтобы он соответствовал индивидуальным потребностям конкретного субъекта и профессиональному мнению лица, которое вводит или руководит введением составов. Соответственно, следует понимать, что указанные в настоящем описании диапазоны концентраций приведены исключительно в качестве примера и не предполагают ограничения объема или осуществления заявленных составов.

Ингибитор HSP90 может необязательно быть суспендирован в микронизированной или другой подходящей форме или может быть дериватизирован с получением более растворимого активного продукта или пролекарства. Форма полученной смеси зависит от ряда факторов, включая предполагаемые путь введения и растворимость соединения в выбранном носителе или среде. Эффективная концентрация является достаточной для облегчения симптомов болезненного состояния и может быть определена эмпирически.

С. Лиофилизированные порошки.

Соединения согласно настоящему изобретению могут также быть приготовлены в форме лиофилизированных порошков, которые могут быть восстановлены для введения в форме растворов, эмульсий и других смесей. Лиофилизированные порошки также могут быть изготовлены в твердой форме или в форме гелей.

Стерильные лиофилизированные порошки могут быть приготовлены путем растворения соединения в натрий-фосфатном буферном растворе, содержащем декстрозу или другой подходящий наполнитель. Последующая стерильная фильтрация раствора, за которой следует лиофилизация в обычных условиях, известных специалистам в соответствующей области, обеспечивает получение желаемых растворов. Вкратце, лиофилизированный порошок может, но не обязательно, быть приготовлен путем растворения декстрозы, сорбита, фруктозы, кукурузной патоки, ксилитола, глицерина, глюкозы, сахарозы или других подходящих агентов в количестве примерно 1-20%, предпочтительно примерно от 5 до 15%, в подходящем буфере, таком как цитратный, натрий- или калий-фосфатный буфер или другие известные буферы, обычно приблизительно при примерно нейтральном pH. Затем к полученной смеси добавляют ингибитор HSP90, предпочтительно при температуре выше комнатной, предпочтительно приблизительно при 30-35°C, и перемешивают до растворения. Полученную смесь разбавляют путем добавления дополнительного количества буфера до желаемой концентрации, полученную смесь подвергают стерильной фильтрации или обрабатывают для удаления твердых частиц, чтобы обеспечить стерильность, и распределяют в сосуды для лиофилизации. Каждый сосуд может содержать одну дозу или множество доз ингибитора.

D. Составы для местного введения.

Соединения согласно настоящему изобретению также можно вводить в форме смесей для топического применения. Смеси для местного применения могут включать смеси для местного и системного введения. Конечные смеси могут представлять собой раствор, суспензию, эмульсию и т.д. и могут иметь форму кремов, гелей, мазей, эмульсий, эликсиров, лосьонов, суспензий, настоев, паст, пен, аэрозолей, жидкостей для спринцевания, спреев, суппозиторий, бандажей, кожных пластырей или могут представлять собой другую форму для топического введения.

Ингибиторы HSP90 могут быть изготовлены в форме аэрозолей для топического введения, например, путем ингаляции (см. патенты США № 4044126, 4414209 и 4364923, в которых описаны аэрозоли для доставки стероидов, которые можно применять для лечения воспалительных заболеваний, в частности астмы). Такие составы для введения в дыхательные пути могут иметь форму аэрозоля или раствора для небулайзера, или представлять собой ультратонкий порошок для вдыхания, отдельно или в комбинации с инертным носителем, таким как лактоза. В таких случаях частицы лекарственной формы будут обычно иметь диаметр менее 50 мкм, предпочтительно менее 10 мкм.

Ингибиторы также могут быть изготовлены в форме для местного или топического применения, например, для топического нанесения на кожу и слизистые оболочки, например, в глазу, в форме гелей, кремов и лосьонов для нанесения на глаз или для интраокулярного или интраспинального введения. Топическое введение предполагается для чрескожной доставки в глаза или слизистую оболочку, для ингаляционных средств терапии. Также можно использовать растворы ингибитора HSP90 отдельно или в комбинации с другими фармацевтическими наполнителями для назального введения.

E. Составы для других путей введения.

В зависимости от болезненного состояния, которое лечат, можно использовать другие пути введения, такие как местное нанесение трансдермальных пластырей и ректальное введение. Например, лекарственные формы для ректального введения представляют собой ректальные суппозитории, капсулы и таб-

летки для системного действия. Ректальные суппозитории в настоящем описании обозначают твердые тела для введения в прямую кишку, которые плавятся или размягчаются при температуре тела с высвобождением одного или более фармацевтически или терапевтически активных ингредиентов. Фармацевтически приемлемые вещества, которые можно применять в ректальных суппозиториях, представляют собой основы или носители, или вещества, повышающие точку плавления. Примеры оснований включают какао-масло, глицерин-желатин, карбовакс (полиоксиэтиленгликоль) и подходящие смеси моно- и диглицеридожирных кислот. Можно использовать комбинации различных оснований. Средства, повышающие точку плавления, включают спермацет и воск. Ректальные суппозитории могут быть получены либо путем прессования, либо формованием. Обычно масса ректального суппозитория составляет примерно от 2 до 3 г. Таблетки и капсулы для ректального введения могут быть изготовлены с использованием тех же фармацевтически приемлемых веществ и теми же методами, что и в случаях составов для перорального введения.

F. Примеры составов.

Ниже приведены конкретные примеры составов для перорального, внутривенного введения и таблеток, которые необязательно можно использовать для соединений согласно настоящему изобретению. Следует отметить, что эти составы могут варьировать в зависимости от конкретного используемого соединения и показаний, при которых это соединение предполагают применять.

Состав для перорального введения

Соединение согласно настоящему изобретению	10-100 мг
Моногидрат лимонной кислоты	105 мг
Гидроксид натрия	18 мг
Ароматизатор	
Вода	в достаточном количестве до 100 мл

Составы для внутривенного введения

Соединение согласно настоящему изобретению	0.1-10 мг
Декстроза моногидрат	в достаточном количестве до получения изотонического раствора
Моногидрат лимонной кислоты	1.05 мг
Гидроксид натрия	0.18 мг
Вода для инъекций	в достаточном количестве до 1,0 мл

Составы в форме таблеток

Соединение согласно настоящему изобретению	1%
Микрокристаллическая целлюлоза	73%
Стеариновая кислота	25%
Коллоидный оксид кремния	1%.

Дозировка, хозяин и безопасность.

Соединения согласно настоящему изобретению стабильны и их применение безопасно. В частности, соединения согласно настоящему изобретению можно применять в качестве ингибиторов HSP90 у разнообразных субъектов (например, людей, млекопитающих, не являющихся людьми и не являющихся млекопитающими).

Оптимальная доза может варьировать в зависимости от таких событий, как, например, тип субъекта, масса тела субъекта, тяжесть состояния, путь введения и специфические свойства конкретного соединения, которое используют. Обычно, приемлемые и эффективные дозы представляют собой количество, достаточное для того, чтобы эффективно замедлять или устранять состояние, которое лечат. Обычно, ежедневная доза для перорального введения взрослому (масса тела около 60 кг) составляет приблизительно от 1 до 1000 мг, приблизительно от 3 до 300 мг или приблизительно от 10 до 200 мг. Очевидно, что ежедневную дозу можно вводить одной или несколькими (например, 2 или 3) порциями в день.

Получение ингибиторов HSP90.

Могут быть разработаны различные способы получения соединений согласно настоящему изобретению. Типичные способы синтеза таких соединений приведены в разделе "Примеры". Однако необходимо отметить, что соединения согласно настоящему изобретению могут также быть получены с использованием других способов синтеза, разработанными другими специалистами.

Схемы синтеза соединений согласно настоящему изобретению.

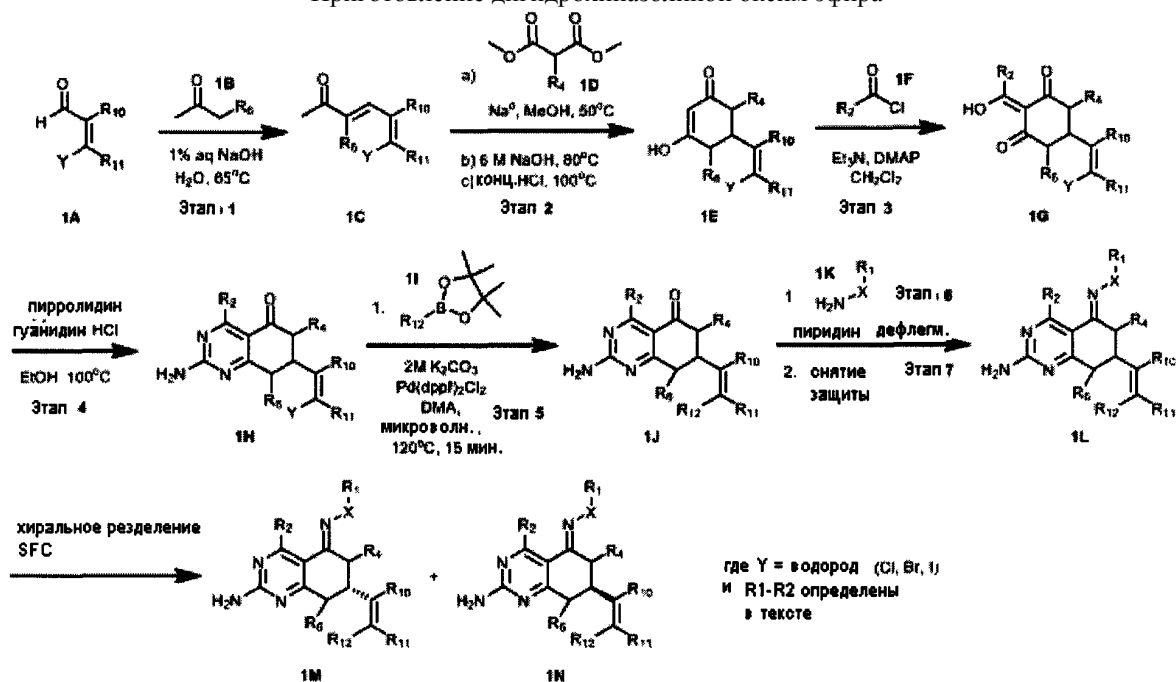
Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены с использованием приведенных ниже схем реакций. Специалист в соответствующей области сможет легко разработать другие схемы реакции. Также очевидно, что для оптимизации выходов данных реакций могут быть использованы различные растворители, температуры и другие условия реакций.

В описанных ниже реакциях может быть необходимой защита реакционных функциональных групп, например, гидроксид, амин, имино, тио или карбоксигрупп, в случае, когда желательно их присутствие в конечном продукте, чтобы избежать их нежелательного участия в реакциях. Можно использовать стандартные защитные группы в соответствии со стандартными процедурами, которые описаны, например, в P.G.M. Wuts and T.W. Greene in "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th edition,

John Wiley and Sons, 2007.

Схема 1

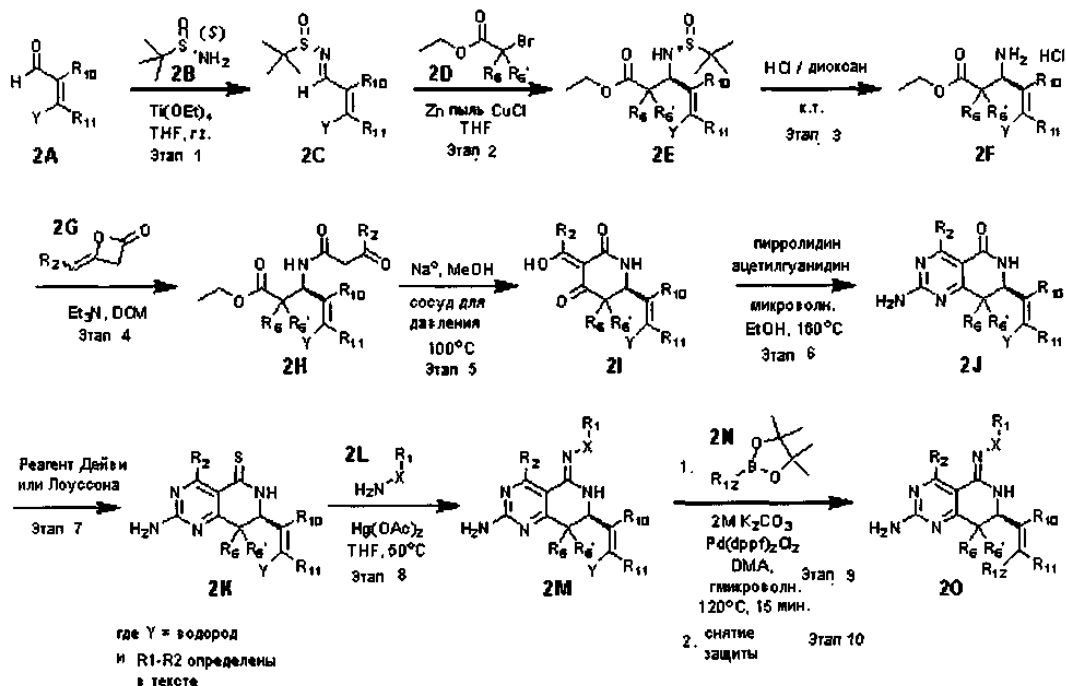
Приготовление дигидрохиназолинон оксим эфира



Реакция альдегида 1A с ацетон-производным 1B дает енон 1C (этап 1). Обработка енона 1C малонат-производным 1D с последующей сапонификацией и декарбоксилированием дает винилоговую кислоту 1E (этап 2). С-ацилирование хлорангидридом 1F дает трион 1G (этап 3). Обработка 1G гуанидином в присутствии пирролидина дает дигидрохиназолинон 1H (этап 4). Реакция сочетания Сузуки с бороновым эфиром 1I (этап 5) дает соединение 1J. Реакция с алкоксиамином 1K в рефлюксируемом пиридине (этап 6) и, в случае необходимости, снятие защиты (этап 7) дает оксим эфир 1L. Хиральное разделение путем сверхкритической жидкостной хроматографии дает оба энантиомера, 1M и 1N.

Схема 2

Получение дигидропиридопиримидинон оксим эфира

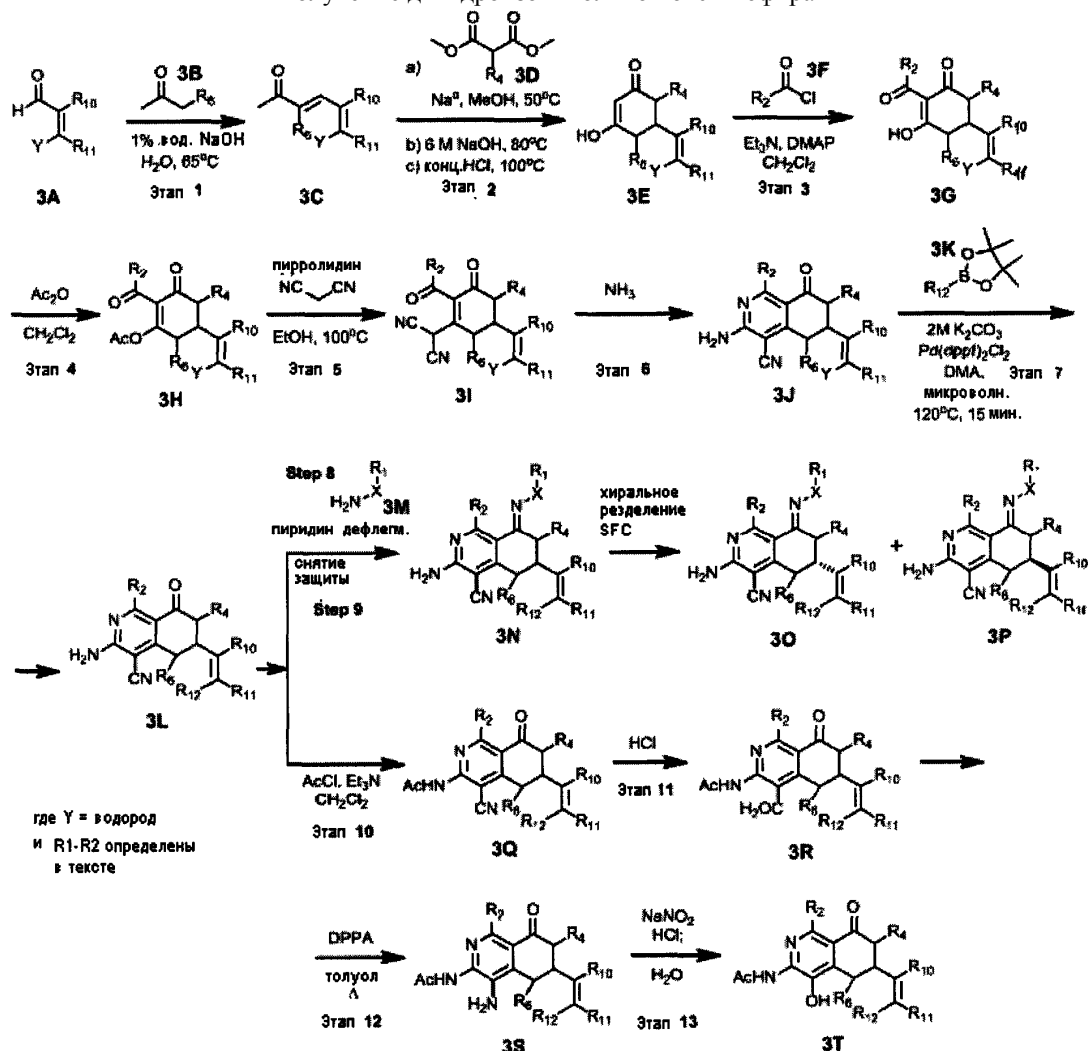


Реакция альдегида 2A с хиральным сульфониамидом 2B в присутствии тетраэтоксид титана дает имин 2C (этап 1). Обработка сульфониамида только реагентом Реформатского 2D дает хиральный сульфониамид 2E (этап 2), после чего проводят катализируемое кислотой снятие с получением хиральной бета-аминокислоты 2F (этап 3). Реакция амина с функционализированным дикетеном 2G дает амид 2H (этап 4), после чего осуществляют обработку метоксидом с образованием продукта конденсации Дикма-

на 2I (этап 5). Реакция винилового кислоты 2I с ацетилгуанидином дает продукт конденсации 2J (этап 6). Превращение лактама 2J в тиолактам 2K осуществляют с использованием реагента Леви или Лоуссона (этап 7). Превращение тиолактам 2K в амидин 2M осуществляют путем обработки замещенным алкоксиамином 2L (этап 8). Наконец, реакция сочетания Сузуки с бороновым эфиром 2N (этап 9) и, в случае необходимости, удаление защиты (этап 10) дает конечный продукт 2O.

Схема 3

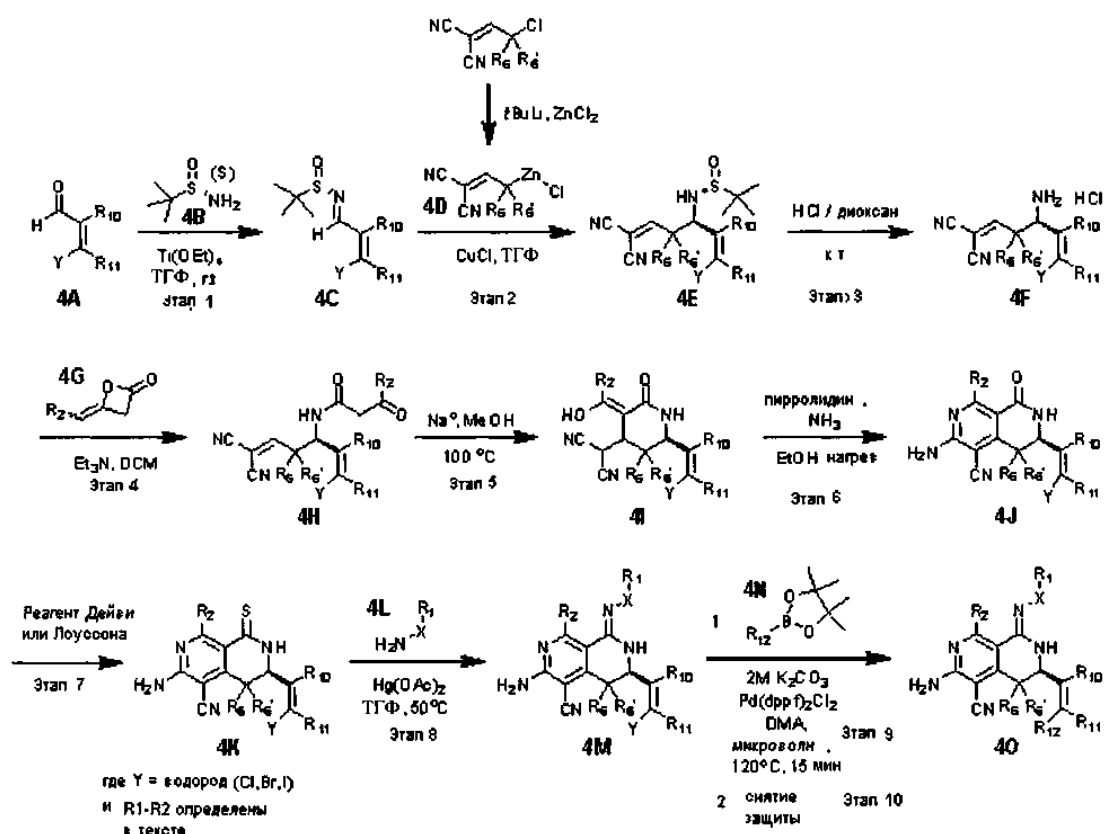
Получение дигидроизохинолинон оксим эфира



Реакция альдегида 3A с ацетон-производным 3B дает енон 3C (этап 1). Обработка енона 3C малонат-производным 3D с последующей сапонификацией и декарбоксилированием дает виниловую кислоту 3E (этап 2). С-ацилирование хлорангидридом 3F дает трион 3G (этап 3). Ацетилирование винилового кислоты дает 3H (этап 4), которое, в свою очередь, обрабатывают малонитрилом в основной среде с получением 3I (этап 5). Обработка биснитрила 3I аммиаком дает аминопиридин 3J (этап 6). Реакция сочетания Сузуки с бороновым эфиром 3K (этап 7) дает соединение 3L. Реакция с алкоксиамином 3M в дефлегмируемом пиридине (этап 8) и, в случае необходимости, снятие защиты (этап 9) дает оксим эфир 3N. Хиральное разделение путем сверхкритической жидкостной хроматографии дает оба энантиомера, 3O и 3P.

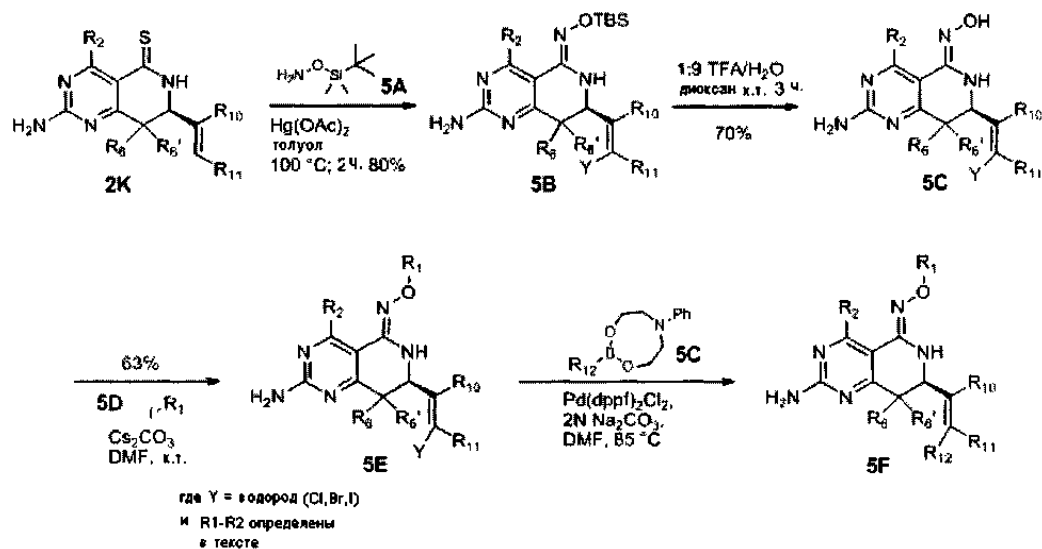
Далее, 3L можно подвергнуть описанной ниже серии трансформаций с получением различных групп R₇. Аминопиридин 3L защищают в форме ацетил-производного 3Q (этап 10). Обработка нитрила 3Q HCl дает кислоту 3R (этап 11). Перегруппировка Куртиса, стимулируемая дифенилфосфорилазидом (этап 12), дает анилин 3S. Наконец, анилин 3S может быть превращен в фенол 3T с использованием реагентов Зандмейера. Любое из промежуточных соединений 3Q, 3R, 3S и 3T может быть функционализировано, как показано в этапах 8 и 9 с получением соответствующих оксимэфиров, с последующим хиральным разделением путем сверхкритической жидкостной хроматографии.

Схема 4
Получение дигидроафтиридинон оксим эфира



Реакция альдегида 4A с хиральным сульфониомидом 4B в присутствии тетраэтоксид титана дает имин 4C (этап 1). Обработка сульфанимида только реагентом Реформатского 4D дает энантимерно чистый сульфониамид 4E (этап 2), после чего проводят катализируемое кислотой снятие защиты с получением бета-аминокислоты 4F (этап 3). Реакция амина с функционализированным дикетеном 4G дает амид 4H (этап 4), после чего осуществляют обработку метоксидом с получением продукта конденсации Дикмана 4I (этап 5). После окисления реакция бензонитрила 4I с аммиаком дает продукт конденсации 4J (этап 6). Превращение лактама 4J в тиолактам 4K осуществляют с использованием тиолирующего реагента, такого как реагенты Дэви и Лоуссона (этап 7). Превращение тиолактама 4K в амидин 4M осуществляют путем обработки замещенным алкоксиамином 4L (этап 8). Наконец, реакция сочетания Сузуки с бороновым эфиром 4N (этап 9) и, в случае необходимости, снятие защиты (этап 10) дает конечный продукт 4O.

Схема 5
Получение дигидропиридопиримидинона оксим эфира

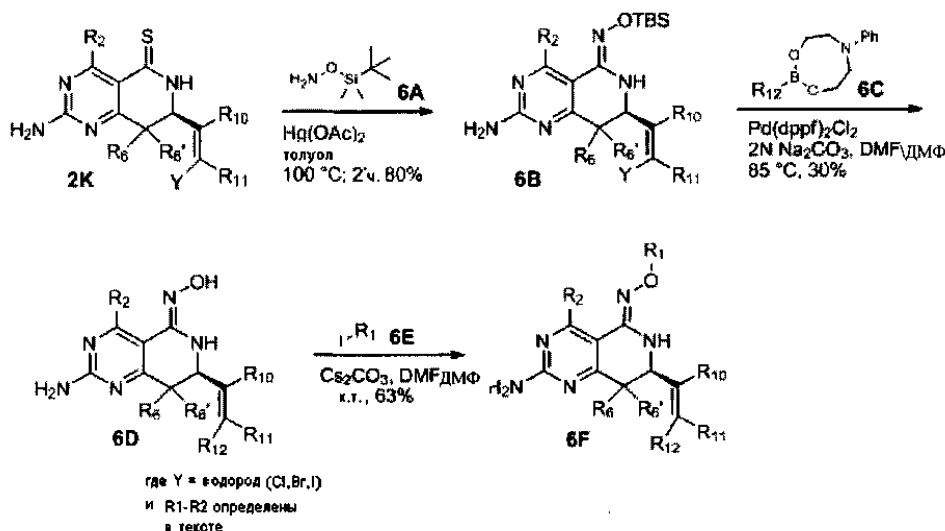


Реакция тиолактама 2K с защищенным гидроксиламином 5A (например, защищенным TBS) в при-

сутствии ацетата ртути дает амидин 5В, после чего проводят катализируемое кислотой снятие защиты с получением гидроксил-производного 5С. Алкилирование подходящим галоалкилом 5D в основании, например Cs_2CO_3 , дает оксим эфир 5Е, после чего осуществляют реакцию сочетания, такую как реакция сочетания Сузуки с бороновой кислотой 5С, и, если необходимо, снятие защиты с получением продукта 5F.

Схема 6

Получение дигидронафтиридинон оксим эфира



Реакция тиолактама 2K с защищенным гидроксиламином 6A (например, защищенным TBS) в присутствии сильного тиофила (например, ацетата ртути) дает амидин 6B. Реакция арилирования (например, реакция сочетания Сузуки) с бороновым эфиром 6C и снятие защиты дают гидроксил-производное 6D. Алкилирование соответствующим галоалкилом 6E в основании, например Cs_2CO_3 , дает продукт 6F.

В каждой из описанных выше процедур или схем реакций различные заместители, отличные от указанных в описании, могут быть выбраны из различных заместителей.

Общие процедуры.

Очевидно, что некоторые соединения согласно настоящему изобретению содержат атомы, связанные с другими атомами, которые придают соединению конкретную стереохимическую структуру (например, хиральные центры). Очевидно, что синтез соединений согласно настоящему изобретению может привести к получению смесей различных стереоизомеров (т.е. энантиомеров и диастереомеров). Если не указана конкретная стереохимическая структура, предполагается, что упоминание соединения включает все возможные различные стереоизомеры.

Соединения согласно настоящему изобретению могут также быть получены в форме отдельных стереоизомеров путем осуществления реакции рацемической смеси соединения согласно настоящему изобретению с оптически активным разделяющим агентом с образованием пары диастереоизомерных соединений, разделения диастереоизомеров и выделения оптически чистого энантиомера. Хотя разделение энантиомеров можно осуществить с использованием ковалентных диастереомерных производных соединений, предпочтительно использовать диссоциируемые комплексы (например, кристаллические диастереоизомерные соли).

Соединения согласно настоящему изобретению также могут быть изготовлены в виде фармацевтически приемлемых солей путем осуществления реакции формы свободного основания с фармацевтически приемлемыми неорганическими или органическими кислотами. В альтернативном варианте соли присоединения с фармацевтически приемлемыми кислотами могут быть приготовлены путем осуществления реакции формы свободной кислоты с фармацевтически приемлемым неорганическим или органическим основанием. Неорганические и органические кислоты и основания, пригодные для получения фармацевтически приемлемых солей соединений, описаны в разделе "Определения" данного патента. В альтернативном варианте формы свободных оснований соединений могут быть приготовлены с использованием солей исходных материалов и промежуточных соединений.

Формы свободных кислот или свободных оснований соединений могут быть получены из соответствующих солей присоединения оснований и солей присоединения кислот. Например, соединение из формы соли присоединения кислоты может быть переведено в форму соответствующего свободного основания путем обработки подходящим основанием (например, раствором гидроксида аммония, гидроксидом натрия и т.п.). Соединение в форме присоединения основания может быть превращено в соответствующую свободную кислоту путем обработки подходящей кислотой (например, соляной и т.п.).

Производные соединений, представляющие собой пролекарства, могут быть получены способами, известными среднему специалисту в соответствующей области (например, дальнейшие подробности

можно найти в Saulnier et al. (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol. 4, p. 1985). Например, соответствующие пролекарства могут быть приготовлены путем осуществления реакции недериватизированного соединения с подходящим карбамалирующим агентом (например, 1,1-ацилоксиалкилкарбонохлоридат, перенитрофенил карбонат и т.п.).

Защищенные соединения согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены способами, известными среднему специалисту в соответствующей области. Подробное описание методик, которые можно применять для получения защитных групп и их удаления, приведено в P.G.M. Wuts and T.W. Greene, "Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis", 4th edition, John Wiley & Sons, Inc. 2007.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть легко приготовлены или образованы в ходе осуществления способов согласно настоящему изобретению в форме сольватов (например, гидратов). Гидраты соединений согласно настоящему изобретению могут быть легко приготовлены путем рекристаллизации из смеси водного/органического растворителя с использованием органического растворителя, такого как диоксин, тетрагидрофуран или метанол.

Настоящее изобретение также предусматривает (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим бензоат - форму. Образование (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим бензоата (формы А) обычно осуществляют путем кристаллизации из растворителя. На практике, удобные растворители включают хлороформ, толуол, ацетонитрил и ацетон. Также можно использовать антирастворители, т.е. растворители или растворы, в которых соединения растворяются хуже, чем в выбранном растворителе. Объем растворителя не критичен, однако для удобства его следует поддерживать минимальным. Необязательно, кристаллизацию можно инициировать при помощи формы А. Такие процессы обычно требуют от 2 ч до 7 дней. Очевидно, что термины "кристаллизовать", "кристаллизование" и "кристаллизация" обозначают полное растворение с последующим осаждением, а также процесс образования суспензии без полного растворения.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим бензоат (форма А) может быть исследован методом рентгеновской дифрактографии. Порошковая рентгеновская дифрактограмма формы А, полученная по стандартной методике рентгеновской кристаллографии, приведена на фиг. 2. Стандартные порошковые дифрактометры обычно оборудованы медным источником, монохроматором первичного пучка и детектором положения. Падающий луч обычно коллимируется с использованием дивергентной щели около 1°. Источник обычно работает при 40 кВ и 30 мА. Порошковая рентгеновская дифракция может регистрироваться при угле два тета от 3 до 120° с шагом от 0.02 до 0.04. Дифрактометр может быть откалиброван по кремниевому стандарту или другим подходящим стандартным материалам. Многие современные дифрактометры могут быть автоматизированы, что обеспечивает вращение образцов в ходе сбора данных. Очевидно, что относительная интенсивность пиков рентгеновской дифракции может зависеть от предпочтительной ориентации и других факторов. Соответственно, может потребоваться обработка формы А для подавления таких факторов, например, измельчение образца в агатовой ступке с пестиком или другие меры. Очевидно, что различия в относительной интенсивности дифракционных пиков не мешают получению дифракционной картины, соответствующей (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил бензоата (форма А). Также очевидно, что для идентификации (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил бензоата (формы А) требуется только набор пиков, показанных на фиг. 2, а в некоторых примерах достаточно одного пика.

Форма А также может быть исследована путем температурного анализа, обычно дифференциальной сканирующей колориметрии (DSC) и термогравиметрии. На фиг. 3 показаны термограммы, полученные методом DSC и термогравиметрии формы А. Термограмма DSC показывает единственное эндотермическое событие при 128°C, которое соответствует плавлению.

В настоящем описании символы и обозначения, используемые в способах, схемах и примерах согласуются с используемыми в современной научной литературе, например в журнале Американского химического общества (*Journal of the American Chemical Society*) или журнале биологической химии (*Journal of Biological Chemistry*). Для обозначения остатков аминокислот используются стандартные однобуквенные и трехбуквенные обозначения, которые предполагают L-конфигурацию, если не указано иное. Кроме тех случаев, когда указано другое, все исходные материалы были приобретены у коммерческих поставщиков и использовались без дополнительной очистки. В частности, в примерах и описании могут встретиться следующие сокращения:

мкл (микролитр)	Ac (ацетил)
атм (атмосфера)	АТФ (аденозин трифосфат)
ВОС (трет-бутилоксикарбонил)	ВОР (бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфиновый хлорид)
БСА (бычий сывороточный альбумин)	CBZ (бензилоксикарбонил)
CDI (1,1-карбонилдиимидазол)	DCC (дициклогексилкарбодимид)
DCE (дихлорэтан)	ДХМ (дихлорметан)
DMAp (4-диметиламинопиридин)	DME (1,2-диметоксиэтан)
ДМФ (N,N-диметилформамид)	DMPU (N,N'-диметилпропилмочевина)
ДМСО (диметилсульфоксид)	EDCI (этилкарбодимид гидрохлорид)
ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота)	Et (этил)
Et ₂ O (диэтиловый эфир)	EtOAc (этил ацетат)
FMOC (9-флуоренилметоксикарбонил)	г (грамм)
ч (час)	HOAc или AcOH (уксусная кислота)
НОВТ (1-гидроксibenзотриазол)	HOSu (N-гидроксисукцинимид)
ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография)	Гц (Герц)
i.v. (внутривенно)	IBCF (изобутил хлорформат)
i-PrOH (изопропанол)	л (литр)
М (моль)	mCPBA (мета-хлорпербензойная кислота)
Me (метил)	MeOH (метанол)
мг (миллиграмм)	МГц (мегагерц)
мин (минута)	мл (миллилитр)
мМ (миллимоль)	ммоль (миллимоль)
моль (моль)	MOPS (морфолинпропансульфоновая кислота)
т.п. (точка плавления)	NaOAc (ацетат натрия)
OMe (метокси)	psi (фунт на квадратный дюйм)
ОФ (RP, обращенная фаза)	к.т. (температура окружающей среды)
SPA (анализ сцинтилляции близости)	TBAF (тетра-п-бутиламмония фторид)
TBS (t-бутилдиметилсилил)	tBu (трет-бутил)
ТЭА (триэтиламин)	ТФА (трифторуксусная кислота)
ТФАА (трифторуксусный альдегид)	ТГФ (тетрагидрофуран)
TIPS (триизопропилсилил)	TLC (тонкослойная хроматография)
TMS (триметилсилил)	TMCE (2-(триметилсилил)этил)
Tg (время удерживания)	Brij35 (полиоксиэтиленгликоля додециловый эфир)

Все упоминания эфира или Et₂O относятся к диэтиловому эфиру, упоминания солевого раствора относятся к насыщенному водному раствору NaCl. Если не указано другое, все значения температуры выражены в °C (градусы Цельсия). Все реакции проводят в инертной атмосфере при комнатной температуре, если не указано другое.

¹H-ЯМР спектры регистрировали на аппарате Bruker Avance 400. Химические сдвиги выражены в частях на миллион (ppm). Константа связи выражена в Герцах (Гц). Расщепление описывает видимую множественность и обозначается как s (синглет), d (дублет), t (триплет), q (квартет), m (мультиплет), br (широкий).

Масс-спектры низкого разрешения (МС) и данные о чистоте соединения получали на устройстве Waters ZQ LC/MS с одной квадрупольной системой, оборудованной источником ионизации электро-спреем (ESI), УФ-детектором (220 и 254 нм) и испарительным детектором рассеяния света (ELSD). Тонкослойную хроматографию проводили на силикагелевых пластинках 0.25 мм E. Merck (60F-254), визуализировали УФ-светом, 5% с использованием фосфомолибденовой кислоты, раствора Нингидрина или р-анизальдегида. Колоночную флэш-хроматографию проводили на силикагеле (меш 230-400, Merck).

Исходные материалы и реагенты, используемые для получения этих соединений, либо доступны у коммерческих поставщиков, таких как Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), Bachem (Torrance, CA), Sigma (St. Louis, MO), или могут быть получены способами, хорошо известными средним специалистам в соответствующей области. Процедуры ниже описаны в таких стандартных источниках, как Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, vols. 1-23, John Wiley and Sons, New York, NY, 2006; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, vols. 1-5 and supps., Elsevier Science Publishers, 1998; Organic Reactions, vols. 1-68, John Wiley and Sons, New York, NY, 2007; March J.: Advanced Organic Chemistry, 5th ed., 2001, John Wiley and Sons, New York, NY; Larock: Comprehensive Organic Transformations, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, 1999. Полное раскрытие всех документов, цитируемых в данном патенте, включены в настоящее описание посредством ссылки.

Известны различные методы разделения рацемических смесей различных стереоизомеров. Например, рацемическую смесь соединения можно подвергнуть реакции с оптически активным разделяющим

агентом с образованием пары диастереоизомерных соединений. Диастереоизомеры можно затем разделить, чтобы выделить оптически чистые энантиомеры. Диссоциируемые комплексы также можно использовать для разделения энантиомеров (например, кристаллические диастереоизомерные соли). Диастереомеры обычно обладают достаточно различающимися физическими свойствами (например, точками плавления, точками кипения, растворимостью, реактивностью и т.д.) и легко могут быть разделены благодаря этим различиям. Например, диастереомеры обычно можно разделить методом хроматографии или с использованием методик разделения/разрешения, использующим различия в растворимости. Более подробное описание методик, которые можно использовать для разделения стереоизомеров соединений, можно найти в Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

Диастереомеры обладают различными физическими свойствами (например, точками плавления, точками кипения, растворимостью, реактивностью и т.д.) и легко могут быть разделены благодаря этим различиям. Диастереомеры можно разделять путем хроматографии или предпочтительно при помощи методик разделения/разрешения, основанных на различиях в растворимости. Затем выделяют оптически чистый энантиомер с использованием разделяющего агента любыми практическими средствами, которые не приведут к рацемизации. Более подробное описание методик, которые можно применять для выделения стереоизомеров соединений из рацемических смесей, можно найти в Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

Хиральные компоненты могут быть разделены при помощи любой из разнообразных методик, известных специалистам. Например, хиральные компоненты могут быть очищены путем сверхкритической жидкостной хроматографии (SFC). В одном варианте анализ методом хиральной аналитической SFC/MC осуществляют с использованием аналитической системы Berger (AutoChem, Newark, DE), которая состоит из модуля контроля жидкости с двойным насосом Berger FCM 1100/1200 и модифицирующим жидкостным насосом FCM 1200, печи Berger TCM 2000 и автосэмплером Alcott 718. Интегральной системой может управлять программное обеспечение BI-SFC Chemstation, версии 3.4. Детектирование можно осуществлять на детекторе Waters ZQ 2000, управляемом в положительном режиме с интерфейсом ESI, в диапазоне измерений от 200-800 Да с 0.5 с на изображение. Хроматографическое разделение можно осуществлять на колонках ChiralPak AD-H, ChiralPak AS-H, ChiralCel OD-H или ChiralCel OJ-H (5 мк 4.6×250 мм; Chiral Technologies, Inc. West Chester, PA) с 10 до 40% в качестве модификатора, с ацетатом аммония или без (10 мМ). Можно использовать любую из различных скоростей потока, включая например, 1.5 или 3.5 мл/мин при давлении на входе, установленном на 100 бар. Дополнительно, можно использовать разнообразные параметры впрыскивания образца, включая, например, объем образца 5 или 10 мкл в метаноле при концентрации 0.1 мг/мл.

В другом варианте препаративную хиральную хроматографию можно осуществлять с использованием системы очистки Berger MultiGram II SFC. Например, образцы можно загружать на колонки ChiralPak AD column (21×250 мм, 10 мкм). В конкретных вариантах скорость потока для разделения может быть 70 мл/мин, объем образца может составлять до 2 мл, а давление на входе может быть установлено на 130 бар. Для повешения эффективности можно применять множество впрыскиваний.

Описание синтеза конкретных соединений согласно настоящему изобретению на основании описанных выше схем реакции и их варианты приведены ниже в разделе "Примеры".

Исследование биологической активности соединений согласно настоящему изобретению.

Ингибирующее действие соединения согласно настоящему изобретению на HSP90 может быть оценено с использованием разнообразных видов анализа связывания и функционального анализа. Хорошо известно, что связывание N-концевого АТФ-связывающего домена HSP90 ингибирует связывание АТФ и АТФ-зависимую активность шаперонов, Roe et al. *J. Med. Chem.* 1999 42, 260-266. В литературе описаны разнообразные тесты связывания *in vitro* и *in vivo* для оценки аффинности соединений согласно настоящему изобретению к HSP90; например, Chiosis et al. *Chemistry & Biology*, 2001, 8: 289-299, Carreras et al. *Anal Biochem*, 2003, 317(1): 40-6; Kim et al. *J. Biomol Screen*, 2004, 9(5): 375-81; и Zhou et al. *Anal Biochem*, 2004, 331(2): 349-57.

Пример А-1 ниже описывает конкурентный флуоресцентный поляризационный анализ *in vitro*, в котором тестируемое соединение конкурирует с флуоресцентным зондом за связывание со связывающим доменом рекомбинантного HSP90 человека. За кинетикой реакции можно следить по флуоресценции (возбуждение при $\lambda=485$ нм; испускание при $\lambda=538$ нм). Аффинность связывания тестируемого соединения с HSP90 определяют по поляризованной флуоресценции; интенсивность поляризованной флуоресценции пропорциональна доли связанного зонда, новый низкомолекулярный зонд, (S,E)-5-(2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-илиденаминоокси)этилкарбамоил)-2-(6-гидрокси-3-оксо-3H-ксантен-9-ил)бензойная кислота (зонд TSD-FP) был разработан специально для этого анализа. Константы ингибирования можно рассчитать (IC_{50}) при помощи нелинейной аппроксимации кривой концентраций соединения и интенсивностей флуоресценции стандартным уравнением IC_{50} . Для справки, измеренные в этом тесте значения IC_{50} для двух известных ингибиторов HSP90: гелданамицина (GM) и 17-аллиламино,17-деметоксигелданамицина (17-

ААG) после 1 ч инкубации с ферментом и зондом TSD-FP, составили 90 и 400 нм соответственно. С использованием процедуры, описанной в примере А-1, было показано, что приведенные в качестве примеров соединения обладают аффинностью связывания HSP90, соответствующей IC_{50} менее 10 мкМ, а некоторые - менее 1 мкМ, а большинство других соединений обладают значением IC_{50} менее 0.1 мкМ. Значения IC_{50} приведенных в качестве примеров соединений согласно настоящему изобретению приведены в табл. 1.

Ингибирующее действие соединений согласно настоящему изобретению в отношении HSP90 в живых клетках может быть оценено путем измерения жизнеспособности клеток. В примере А-2 описан тест на жизнеспособность клеток, в котором клетки опухоли в фазе экспоненциального роста обрабатывают лекарственным средством в диапазоне концентраций. После обработки лекарственным средством измеряли жизнеспособность клеток по превращению солей тетразолия MTS (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-5-[3-карбоксиметоксифенил]-2-[4-сульфопенил]-2Н-тетразолий, внутренняя соль), (Promega, Madison, WI) метаболически активными клетками. Далее, панель выбранных раковых клеток включает клетки BT-474, HT-29, K-562 и MKN-45, каждая из которых отражает различные типы раковых опухолей, а также понижаемые пути злокачественной трансформации.

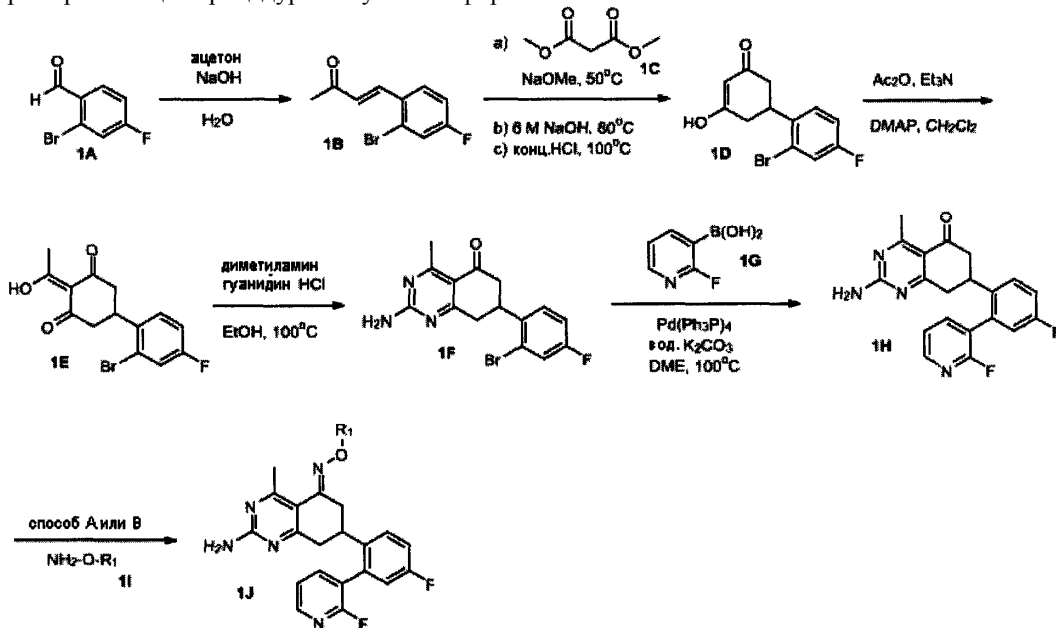
Влияние ингибирования HSP90 ниже по каскаду может быть оценено по индукции HSP70 и функции и стабильности различных стероидных рецепторов и сигнальных белков, включая, например, HER2/ERBB2. Индукция HSP70 является главным признаком ингибирования HSP90. Транскрипция самого HSP70 как АТФ-зависимого белка теплового шока будет повышаться в ответ на неправильно свернутые, денатурированные или агрегированные белки. Поскольку функция HSP90 нарушается, HSP70 стимулируется непосредственно в ответ на изменения белков-клиентов HSP90 в клетке. Guo et al. Cancer Res, 2005, 65(22), 10536. В примере А-3 описан способ количественной оценки индукции HSP70 путем измерения инфракрасной люминесценции β -галактозидазы и определение значений EC_{50} тестового соединения в отношении индукции HSP70/ β -галактозидазы.

Снижение количества онкопротеина HER-2/ERBB2 также указывает на ингибирование HSP90. Sain et al. Mol Cancer Ther, 2006, 5(5), 1197; Sharp et al. Mol Cancer Ther, 2007, 6(4), 1198. HER-2 использует HSP90 для созревания; изменения функционирования HSP90 приводят к появлению неправильно сложенного белка, который в итоге подвергнется убиквитинилированию и разрушению в протеосомах. Соединения согласно настоящему изобретению вызывают деградацию этих молекул, которые можно измерить с использованием хорошо известных методик с использованием антител, таких как иммуноблоттинг, радиоиммуноанализ, Вестерн-блот, иммунопреципитация, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и производные методики с использованием антител против HER2. В примере А-4 описаны процедуры анализа Вестерн-блот для определения значения EC_{50} тестируемого соединения на снижение количества HER2/ERBB2.

Для специалистов в данной области будут очевидны различные модификации и изменения, которые можно внести в соединения, композиции, наборы и способы согласно настоящему изобретению, не выходящие за рамки объема изобретения. Таким образом, предполагается, что настоящее изобретение охватывает модификации и варианты настоящего изобретения, при условии, что они попадают в объем, определяемый формулой изобретения и ее эквивалентами.

Примеры

Пример 1. Общая процедура получения эфира оксима и аналогов.



А. (Е)-4-(2-Бром-4-фторфенил)бут-3-ен-2-он (1В).

В испарительную колбу на 500 мл добавляли 2-бром-4-фторбензальдегид (1А, 10.0 г, 49.3 ммоль, 1.0 экв.) и ацетон (22.9 г, 394 ммоль, 8.0 экв.). Смесь охлаждали до 0°C в ледяной ванне. Добавляли H₂O (200 мл) и смесь превращалась в густую суспензию. Добавляли твердый NaOH (2.16 г, 54.2 ммоль, 1.1 экв.), постепенно нагревали реакционную смесь до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь подкисляли 1 N HCl и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным водным NaCl. Органическую фазу сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением темно-желтого масла, которое использовали на следующем этапе без дополнительной очистки (11.9 г, 99%).

ESI-MS: m/z 243.2 (M+H)⁺.

В. 5-(2-Бром-4-фторфенил)-3-гидроксициклогекс-2-енон (1D).

В испарительную колбу на 500 мл добавляли (Е)-4-(2-бром-4-фторфенил)бут-3-ен-2-он (1В, 11.9 г, 49.0 ммоль, 1.0 экв.) и MeOH (200 мл). Добавляли диметилмалонат (1С, 6.47 г, 49.0 ммоль, 1.0 экв.), а затем NaOMe (30 мас.%, в MeOH, 9.6 мл, 51.4 ммоль, 1.05 экв.). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи, после чего ее конденсировали с получением коричнево-красного твердого вещества. Остаток разбавляли в 1 N NaOH (150 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч, в течение которого цвет реакционной смеси менялся с мутно-красного до прозрачно-коричневого с коричневым осадком. Осторожно добавляли концентрированную HCl до достижения кислого pH смеси (согласно бумажке для определения pH). Реакционную смесь разбавляли EtOAc (200 мл) и промывали насыщенным водным NaCl. Водную фазу экстрагировали EtOAc (1×75 мл). Органическую фазу сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением пенистого оранжевого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без дополнительной очистки (14.3 г, 100%).

ESI-MS: m/z 285.2 (M+H)⁺.

С. 5-(2-Бром-4-фторфенил)-2-(1-гидроксиэтилиден)циклогексан-1,3-дион (1Е).

В испарительную колбу на 500 мл добавляли 5-(2-бром-4-фторфенил)-3-гидроксициклогекс-2-енон (1D) (14.3 г, 50.1 ммоль, 1.0 экв.), CH₂Cl₂ (200 мл), уксусный ангидрид (6.65 г, 65.2 ммоль, 1.3 экв.), Et₃N (15.22 г, 150 ммоль, 3.0 экв.) и диметиламинопиридин (ДМАП) (каталитическое количество). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Мониторинг методом ЖХ/МС показал завершение реакции. Реакционную смесь концентрировали и очищали путем колоночной хроматографии (градиент 70% CH₂Cl₂/Гексан до 100% CH₂Cl₂) с получением продукта в форме светло-желтой пены, которая позже превращалась в масло (3.55 г, 22%). Неочищенный материал использовали на следующем этапе без очистки.

ESI-MS: m/z 327.2 (M+H)⁺.

Д. 2-Амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он (1F).

В 150-мл сосуд для работы под давлением добавляли 5-(2-бром-4-фторфенил)-2-(1-гидроксиэтилиден)циклогексан-1,3-дион (1Е, 1.12 г, 3.42 ммоль, 1.0 экв.), EtOH (30 мл), гуанидин гидрохлорид (818 мг, 8.56 ммоль, 2.5 экв.) и диметиламин (2.0 М в ТГФ, 10 мл, 20.5 ммоль, 6.0 экв.). Сосуд закрывали и нагревали в течение 72 ч при 100°C. Завершение реакции определяли методом ЖХ/МС. Реакционную смесь охлаждали и концентрировали с получением пастообразного серого твердого вещества. К остатку добавляли EtOH (~10 мл) и обрабатывали ультразвуком в суспензии. Твердое вещество собирали путем фильтрации и промывали холодным EtOH с получением светло-желтого твердого вещества (288 мг, 24%).

ESI-MS: m/z 350.2 (M+H)⁺.

Е. 2-Амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он (1H).

В испарительную колбу на 10 мл добавляли 2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он (33 мг, 0.0942 ммоль, 1.0 экв.), 2-фторпиридин-3-бороновую кислоту (27 мг, 0.188 ммоль, 2.0 экв.), DME (2 мл), карбонат калия (2.0 М вод., 94 мкл, 0.188 ммоль, 2.0 экв.) и палладия тетраакс-трифенилфосфин (5 мг, 0.00471 ммоль, 0.05 экв.). Реакционную смесь нагружали с обратным холодильником в течение ночи, после чего ЖХ/МС показала завершение реакции. Реакционную смесь фильтровали через целит и концентрировали с получением остатка. Остаток очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением продукта в форме белого твердого вещества (30 мг, 96%).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2.67 (dd, J=3.54, 1.77 Гц, 1H), 2.89 (br. s., 1H), 3.06 (t, J=12.51 Гц, 2H), 3.18 (br. s., 1H), 7.18 (dd, J=9.60, 2.78 Гц, 1H), 7.31-7.53 (m, 4H), 7.72 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 1H), 7.98 (ddd, J=9.79, 7.52, 1.89 Гц, 1H), 8.28 (d, J=4.80 Гц, 1H).

ESI-MS: m/z 367.3 (M+H)⁺.

ESI-MS: m/z 367.3 (M+H)⁺.

Ф. Получение оксим эфиров.

Оксим эфиры могут быть получены либо способом А, либо способом В, которые описаны ниже.

Способ А, основные условия. Раствор 2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1H, 0.27 ммоль, 1.0 экв.) и соответствующего гидросиламина II (0.54

ммоль, 2.0 экв.) в сухом пиридине (2 мл) перемешивали в течение ночи при 75°C. Смесь вливали в ледяную воду, полученный осадок собирали путем фильтрации. Неочищенное твердое вещество перекристаллизовывали в горячем этаноле с получением чистого продукта 1J в форме белого твердого вещества с выходом 90%.

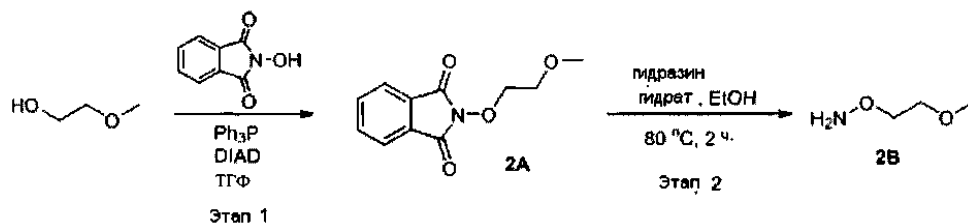
Способ В.

Кислые. Раствор 2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1H, 0.27 ммоль, 1.0 экв.) в EtOH (3 мл) перемешивали в атмосфере N₂. Добавляли соответствующий гидросиламин II (0.35 ммоль, 1.3 экв.) и водную HCl (5 M, 0.48 ммоль, 1.8 экв.) и нагревали реакционную смесь с обратным холодильником в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали. Полученный остаток собирали и перекристаллизовали в горячем этаноле с получением чистого продукта 1J в форме белого или беловатого порошка с выходом около 90%.

Пример 2.

Получение реагентов - гидросиламинов.

А. Синтез О-(2-метоксиэтил)гидросиламина (2В).



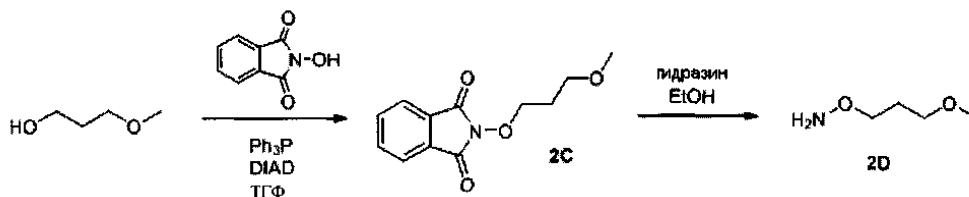
Этап 1. 2-Метоксиэтанол (2.00 г, 26.3 ммоль), N-гидроксифталиимид (4.72 г, 28.9 ммоль, 1.1 экв.) и трифенилфосфин (7.58 г, 28.9 ммоль, 1.1 экв.) растворяли в 85 мл сухого ТГФ, а затем смесь охлаждали в ледяной ванне. Диизопропил азодикарбоксилат (6.91 г, 34.2 ммоль, 1.3 экв.) растворяли в 15 мл сухого ТГФ и медленно добавляли к описанной выше смеси. Реакционную смесь перемешивали в ледяной ванне в течение 10 мин, после чего ледяную ванну удаляли. Затем реакционную смесь оставляли при перемешивании при комнатной температуре в атмосфере N₂ в течение ночи. После завершения реакции согласно ЖХ/МС, реакционную смесь концентрировали с получением масла. Затем ее очищали путем флэш-хроматографии с использованием смеси гексан/этилацетат 70/30 с получением 2-(2-метоксиэтоксифталиимидо)изоиндолин-1,3-диона (2А, 5.19 г, 89.2% выход).

ESI-МС: m/z 222.3 (M+H)⁺.

Этап 2. 2-(2-Метоксиэтоксифталиимидо)изоиндолин-1,3-дион (5.18 г, 23.4 ммоль) растворяли в 50 мл этанола и гидрате гидразина (22.7 мл, 468 ммоль). Раствор нагревали в течение 2 ч в масляной ванне при температуре 80°C. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые вещества оседали. Это твердое вещество затем фильтровали, фильтрат концентрировали и очищали путем колоночной флэш-хроматографии с использованием смеси хлороформ/метанол 98/2 с получением О-(2-метоксиэтил)гидросиламина (2В, 0.866 г, с выходом 36.2%).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 3.36 (s, 3H), 3.52-3.59 (m, 2H), 3.73-3.85 (m, 2H).

В. Синтез О-(3-метоксипропил)гидросиламина (2D).



2-(3-Метоксипропокси)изоиндолин-1,3-дион (2С) получали из 3-метоксипропан-1-ола и N-гидроксифталиимида, следуя процедуре, аналогичной примеру 2А, этап 1 (3.71 г, с выходом 94.9%).

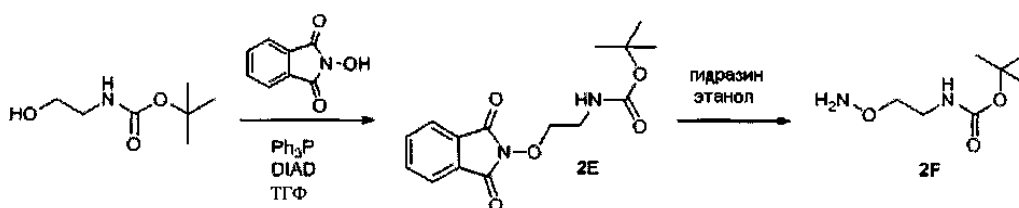
ESI-МС: m/z 236.3 (M+H)⁺.

2С освобождали от защиты, как описано в примере 2А, этап 2 с получением О-(3-метоксипропил)гидросиламина (2D, 0.633 г, с выходом 38.1%).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 1.81 (t, J=6.32 Гц, 2H), 3.31 (s, 3H), 3.45 (t, J=6.32 Гц, 2H), 3.70 (t, J=6.32 Гц, 2H).

ESI-МС: m/z 106.4 (M+H)⁺.

С. Синтез трет-бутил 2-(аминоокси)этилкарбамата (2F).



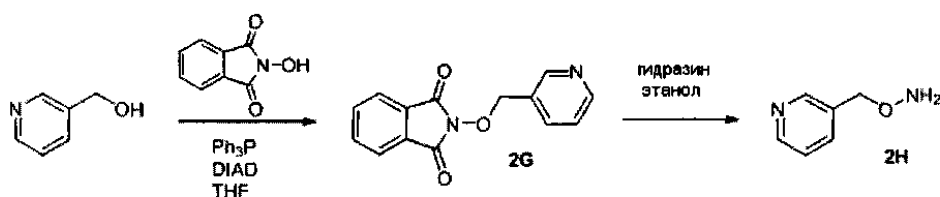
трет-Бутил 2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-илокси)этилкарбамат 2E получали из трет-бутил 2-гидроксиэтилкарбамата и N-гидроксифталимида, следуя процедуре, аналогичной примеру 2A, этап 1.

ESI-MC: m/z 329.3 ($M+Na$)⁺.

2E освобождали от защиты, как описано ранее в 2A, этап 2 с получением трет-бутил 2-(аминоокси)этилкарбамата (2F, 1.26 г, с выходом 58%).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.45 (s, 9H), 3.37 (q, $J=5.31$ Гц, 2H), 3.62-3.85 (m, 2H), 4.90 (br. s., 1H), 5.47 (br. s., 2H).

D. Синтез O-(пиридин-3-илметил)гидроксиламина (2H).



Фталимид-защищенное промежуточное соединение 2G получали из пиридин-3-илметанола и N-гидроксифталимида, следуя процедуре, аналогичной примеру 2A, этап 1 (3.22 г, 81.3% выход).

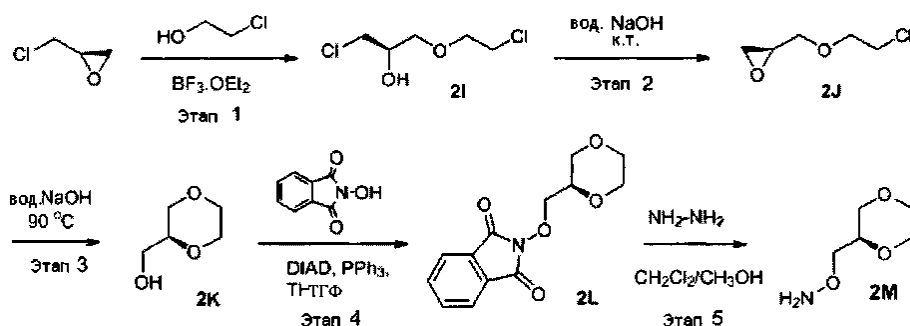
ESI-MC: m/z 255.2 ($M+H$)⁺.

2G освобождали от защиты, как описано ранее в примере 2A, этап 2 с получением O-(пиридин-3-илметил)гидроксиламина (2H, 0.734 г, с выходом 69.2%).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 4.71 (s, 2H), 7.44 (dd, $J=7.83, 5.05$ Гц, 1H), 7.85 (d, $J=7.83$ Гц, 1H), 8.47 (dd, $J=5.05, 1.26$ Гц, 1H), 8.53 (d, $J=2.27$ Гц, 1H).

ESI-MC: m/z 125.3 ($M+H$)⁺.

2E. Синтез (R)-O-((1,4-диоксан-2-ил)метил)гидроксиламина (2M).



Этап 1. 2-Хлорэтанол (34.8 г, 43.2 ммоль) бора трифториддиэтил и бора трифлюорид диэтилэфират (0.136 мл, 1.08 ммоль) растворяли в 20 мл ТГФ и охлаждали в ледяной ванне. В 10 мл ТГФ медленно через шприц добавляли (R)-(-)-эпихлорогидрин (10.0 г, 10.8 ммоль). После добавления ледяную ванну удаляли и смесь нагревали на масляной бане при 45°C в течение 90 мин, за это время реакция завершалась. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом с получением маслянистого сырого продукта (R)-1-хлор-3-(2-хлорэтоксипропан-2-ол (2I, 16.2 г, с выходом 86.6%).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 3.56-3.71 (m, 6H), 3.85-3.92 (m, 3H).

Этап 2. 2I (16.2 г, 93.6 ммоль) растворяли в 45 мл ТГФ и охлаждали в ледяной ванне. В 20 мл воды капельно добавляли гидроксид натрия (9.36 г, 234 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в ледяной ванне в течение 15 мин, и при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и насыщенным раствором хлорида натрия. Продукт экстрагировали в фазу этилацетата три раза. Объединенные органические фазы затем промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили на сульфате натрия и концентрировали в сырой маслянистый продукт, (S)-2-((2-хлорэтоксипропан-2-илокси)метил)оксиран (2J, 11.1 г, с выходом 86.7%).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.57-2.72 (m, 2H), 2.76-2.89 (m, 2H), 3.08-3.25 (m, 2H), 3.45

(dd, $J=12.25, 5.68$ Гц, 1H), 3.51-3.70 (m, 2H).

Этап 3. 2J (11.1 г, 81.3 ммоль) растворяли в 50 мл ТГФ. В 50 мл воды добавляли гидроксид натрия (16.3 г, 406 ммоль) и нагревали реакционную смесь в масляной бане при 90°C в течение одного дня. Несмотря на то что анализ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) показал, что реакция завершена только наполовину, продукт экстрагировали из водной фазы с этилацетатом/ТГФ, дихлорметаном, *n*-бутанолом. Первые две экстракции содержали продукт и исходный материал, который позже очищали методом флэш-колоночной хроматографии (этилацетат/гексан 30/70). Дальнейшие экстракции содержали чистый (S)-(1,4-диоксан-2-ил)метанол (2K, 1.98 г, с выходом 20.8%).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 3.47 (t, $J=9.98$ Гц, 1H), 3.51-3.67 (m, 3H), 3.67-3.87 (m, 5H).

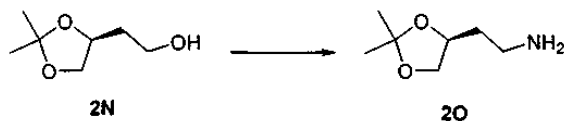
Этап 4. 2K (1.33 г, 11.2 ммоль), *N*-гидроксифталимид (2.02 г, 12.4 ммоль), трифенилфосфин (3.25 г, 12.4 ммоль) растворяли в 30 мл сухого ТГФ и смесь охлаждали в ледяной ванне. Диизопропил азодикарбоксилат (2.51 г, 12.4 ммоль) в 5 мл ТГФ добавляли к указанной выше смеси капельно. После добавления ледяную ванну удаляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. На следующий день реакция была завершена. Смесь концентрировали под вакуумом с получением масла, а затем очищали методом колоночной флэш-хроматографии с использованием этилацетат/гексана 20/80 с получением (R)-2-((1,4-диоксан-2-ил)метокси)изоиндолин-1,3-диона (2L).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 3.56 (t, $J=10.74$ Гц, 1H), 3.60-3.85 (m, 4H), 3.92 (dd, $J=11.75, 2.40$ Гц, 1H), 4.05 (ddd, $J=9.98, 3.03, 2.91$ Гц, 1H), 4.11-4.19 (m, 1H), 4.20-4.29 (m, 1H), 7.71-7.80 (m, 2H), 7.81-7.91 (m, 2H).

Этап 5. 2L (4.30 г, 12.4 ммоль) растворяли в 90 мл метанола/дихлорметана, взятых в соотношении 1/9. Добавляли гидразин гидрат (1.67 мл, 22.4 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, одновременно с чем завершалось удаление защиты. Выпавший в осадок побочный продукт фильтровали, а фильтрат концентрировали с получением масла, а затем очищали путем флэш-хроматографии, с использованием смеси хлороформ/метанол, взятой в соотношении 99/1, с получением (R)-O-((1,4-диоксан-2-ил)метил)гидроксиламина (2M, 0.915 г, 61.4% выход в 2 этапа).

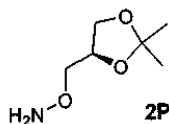
^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 3.41 (t, $J=10.86$ Гц, 1H), 3.57-3.71 (m, 4H), 3.71-3.82 (m, 3H), 3.83-3.92 (m, 1H), 5.55 (br. s., 2H).

F. Синтез (S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанамин (2O).



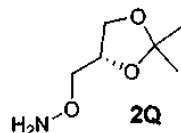
(S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанамин (2O) получали из (S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанол (2N), следуя описанной в литературе процедуре (Tetrahedron Lett, 2005, 46, 5475-5478).

G. Синтез (R)-O-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)гидроксиламина (2P)



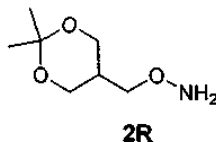
Указанное в названии соединение получали согласно Bailey et al., J. Med. Chem., 1991, 54, 51-65.

2H. Синтез (S)-O-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)гидроксиламина (2Q)



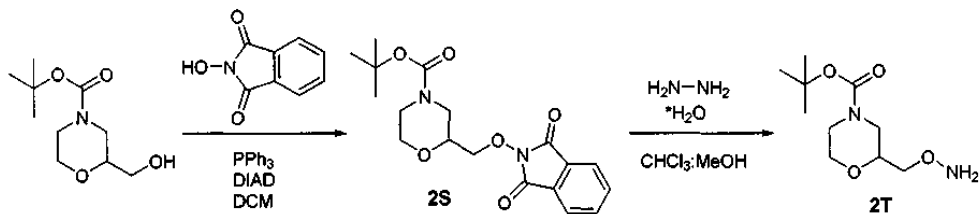
Указанное в названии соединение получали согласно Bailey et al., J. Med. Chem., 1991, 34, 51-65.

2I. Синтез O-((2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метил)гидроксиламина (2R)



Указанное в названии соединение получали согласно Harnden et al., J. Med. Chem., 1990, 33, 187-196.

J. Синтез трет-бутил 2-(аминоксиметил)морфолин-4-карбоксилата (2Т)

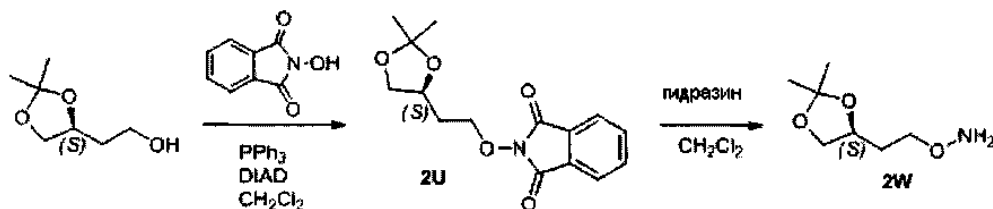


К раствору трет-бутил 2-(гидроксиметил)морфолин-4-карбоксилата (5 г, 23 ммоль) в CH_2Cl_2 (250 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (5.6 г, 34.5 ммоль) и трифенилфосфин (15 г, 57.5 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C (11.1 мл, 57.5 ммоль) и медленно по капле добавляли при помощи капельной воронки диизопропил азодикарбоксилат в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К реакционной смеси добавляли H_2O (300 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 . Органические фазы промывали солевым раствором. Сушили над безводным MgSO_4 , фильтровали и концентрировали с получением прозрачного масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc -гексан). Полученное прозрачное маслянистое вещество 2S растворяли в $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (50 мл). Добавляли гидразин гидрат (25 мл, 0.25 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением прозрачного масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (10% $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$) с получением оксилата (2Т) в виде прозрачного масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.47 (s, 9H), 3.46-3.62 (m, 2H), 3.61-3.79 (m, 4H), 3.79-4.04 (m, 3H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$, 233; эксп., 233.

K. Синтез (S)-O-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламина (2W)



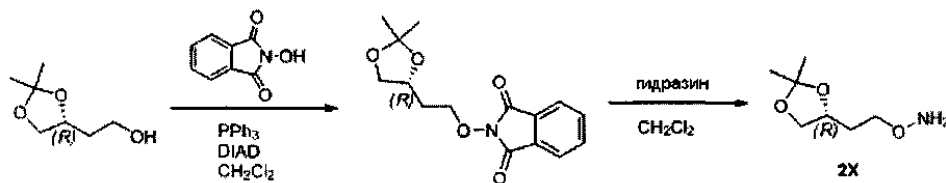
К раствору (S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанола (14.2 мл, 0.1 моль) в CH_2Cl_2 (250 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (16.3 г, 0.1 моль) и трифенилфосфин (39.3 г, 0.15 моль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и медленно по капле добавляли при помощи капельной воронки диизопропил азодикарбоксилат (29.5 мл, 0.15 моль) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К реакционной смеси добавляли H_2O (300 мл) и смесь, экстрагированную CH_2Cl_2 . Органические фазы промывали солевым раствором. Сушили над безводным MgSO_4 , фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc -гексан) с получением 2U в виде светло-желтого масла.

2U растворяли в CH_2Cl_2 (250 мл) и охлаждали до 0°C . Добавляли гидразин гидрат (25 мл, 0.25 моль) по капле при помощи капельной воронки. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (70% EtOAc -гексан) с получением 7.2 г (45%, выход в два этапа) (S)-O-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламина (2W) в виде бледно-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.13 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.53-1.71 (m, 2H), 3.53 (q, $J=6.48$ Гц, 2H), 3.79-3.89 (m, 1H), 3.89-4.01 (m, 1H), 4.63-4.81 (m, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_3$, 162.11; эксп., 162.0.

2L. Синтез (R)-O-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламина (2X)



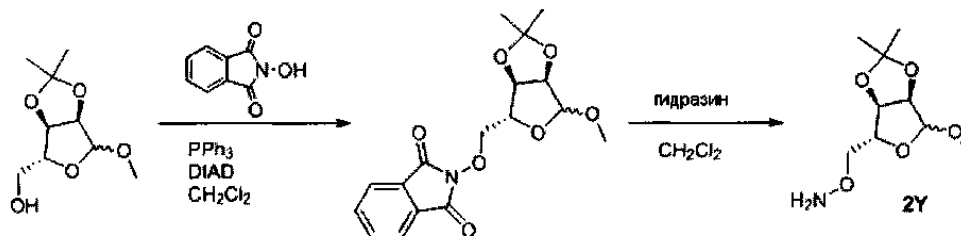
Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 2K, с использованием (R)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанола (4.28 мл, 30 ммоль), CH_2Cl_2 (100 мл), 2-гидроксиизоиндолин-1,3-диона (4.9 г, 30 ммоль), трифенилфосфина (11.8 г, 45 ммоль), диизопропил азодикарбоксилата (8.8 мл, 45 ммоль) и гидразин гидрата (6.0 мл, 60 ммоль) с получением 2.1 г (43%, выход

в два этапа) (R)-O-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламина (2X) в виде бледно-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.13 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.53-1.71 (m, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.79-3.89 (m, 1H), 3.89-4.01 (m, 1H), 4.63-4.81 (m, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_3$, 162.11; эксп., 162.0.

2М. Синтез O-(((3aR,4R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4- d][1,3]диоксол-4-ил)метил)гидроксиламина (2Y).

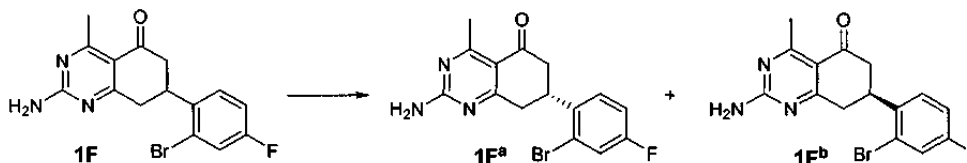


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 2К, с использованием ((3aR,4R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4- d][1,3]диоксол-4-ил)метанола (2.04 г, 10 ммоль), CH_2Cl_2 (25 мл), 2-гидроксиизоиндолин-1,3-диона (2.0 г, 12 ммоль), трифенилфосфина (4.0 г, 15 ммоль), диизопропил азodicарбоксилата (3.0 мл, 15 ммоль) и гидразин гидрата (2.0 мл, 20 ммоль) с получением 1.12 г O-(((3aR,4R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4- d][1,3]диоксол-4-ил)метил)гидроксиламина (2Y) (50%, выход в два этапа) в виде бледно-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.24 (s, 3H), 1.26 (s, 3H), 3.31 (s, 3H), 3.59-3.75 (m, 2H), 4.44 (t, $J=7.20$ Гц, 1H), 4.56 (d, $J=5.81$ Гц, 1H), 4.67 (d, $J=6.06$ Гц, 1H), 4.92-5.00 (m, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{NO}_5$, 220.11; эксп., 220.10.

Пример 3. Хиральное разделение рацемической смеси 2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1F^a и 1F^b).



Дигидрохиназолинон 1F (пример 1) был разделен на его энантиомеры методом сверхкритической жидкостной хроматографии (СЖХ) при следующих условиях:

Колонка ChiralPak IA, 250×10 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

A: CO_2 (1)

B: MeOH

Параметры градиента: 20% MeOH

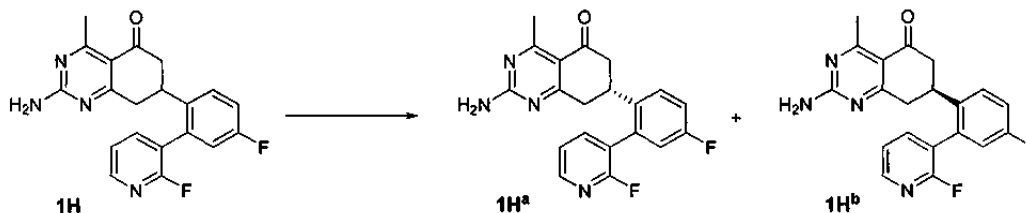
Время прогона: 12 мин

Расход: 20 мл/мин

Объем впрыска: 800 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 82% от исходного количества рацемической смеси. Выход (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1F^a) составил 45%. Выход (S)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1F^b) составил 37%.

Пример 4. Хиральное разделение 2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1H^a и 1H^b).



Дигидрохиназолинон 1H (пример 1) был разделен на его энантиомеры, 1H^a и 1H^b, методом сверхкритической жидкостной хроматографии (СЖХ) при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 250×2 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

A: CO_2 (1)

В: MeOH

Параметры градиента: 30% MeOH

Время прогона: 10 мин

Расход: 50 мл/мин

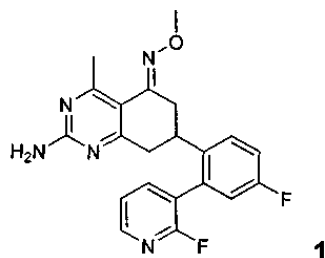
Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 68% от исходного количества рацемической смеси.

Выход (R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1H^a) составил 36%.

Выход (S)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (1H^b) составил 32%.

Пример 5. Получение (E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-метил оксима (соединение 1)

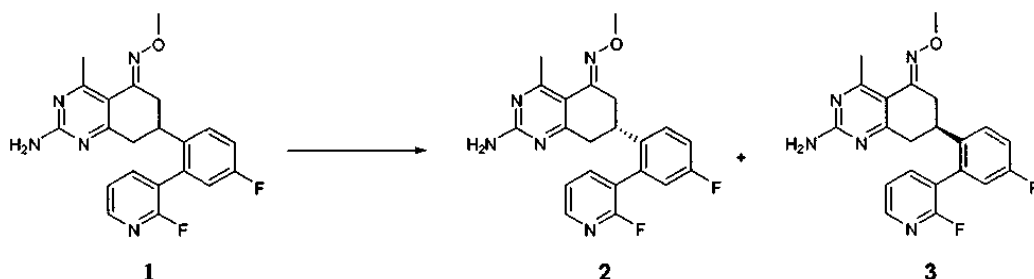


Соединение 1 получали в виде белого или беловатого порошка (90%), следуя процедуре, аналогичной примеру 1, с использованием О-метилгидроксиламина.

¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 2.58-2.68 (m, 5H), 2.78-2.88 (m, 3H), 5.02 (s, 2H), 6.92 (dd, 1H), 7.17 (td, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.40 (dd, 1H), 7.67 (t, 1H), 8.25 (d, 1H).

ESI-МС: m/z 396.1 (M+H)⁺.

Пример 6. Хиральное разделение R и S энантиомеров (E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-метил оксима (соединение 2 и соединение 3).



Рацемическую смесь соединения 1 разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 2 и соединение 3, путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak IA, 250×21 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

А: CO₂ (1)

В: EtOH

Параметры градиента: 40% EtOH

Время прогона: 8 мин

Расход: 50 мл/мин

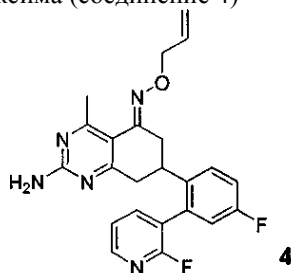
Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 45%.

Выход (R,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-метил оксима (1) составил 23%.

Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (2) составил 22%.

Пример 7. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-аллил оксима (соединение 4)

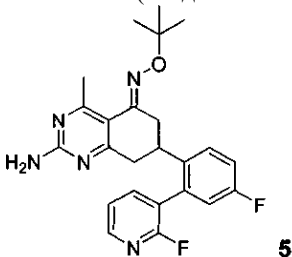


Соединение 4 получали в виде белого или беловатого порошка (90%), следуя процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-аллилгидроксиламина. R и S энантиомеры соединения 4 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 2.58 (m, 5H), 2.82 (m, 3H), 4.60 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 5.19-5.23 (m, 2H), 5.99 (s, 1H), 6.92 (dd, 1H), 7.17 (td, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.41 (dd, 1H), 7.69 (m, 1H), 8.23 (s, 1H).

ESI-МС: m/z 422.1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 8. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-трет-бутил оксима (соединение 5)

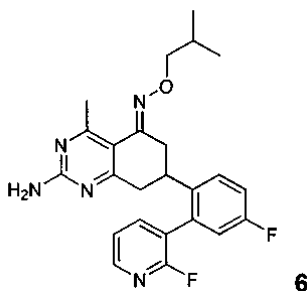


Соединение 5 получали в виде белого или беловатого порошка (90%) согласно процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-трет-бутилгидроксиламина. R и S энантиомеры соединения 5 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 1.29 (s, 9H), 2.61 (m, 4H), 2.82 (m, 3H), 4.96 (s, 2H), 6.94 (dd, 1H), 7.18 (td, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.43 (dd, 1H), 7.70 (m, 1H), 8.25 (s, 1H).

ESI-МС: m/z 438.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 9. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-изобутил оксима (соединение 6)

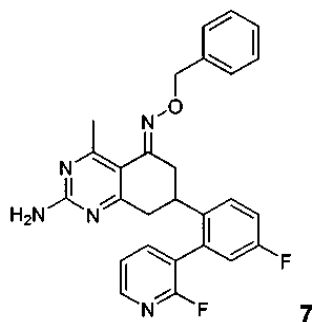


Соединение 6 получали в виде белого или беловатого порошка (90%) согласно процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-изобутилгидроксиламина. R и S энантиомеры соединения 6 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 0.88 (m, 6H), 1.67 (m, 1H), 2.29 (m, 5H), 2.59 (s, 3H), 3.86 (m, 2H), 5.03 (m, 2H), 6.93 (dd, 1H), 7.19 (td, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.41 (dd, 1H), 7.70 (m, 1H), 8.24 (s, 1H).

ESI-МС: m/z 438.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 10. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-бензил оксима (соединение 7)

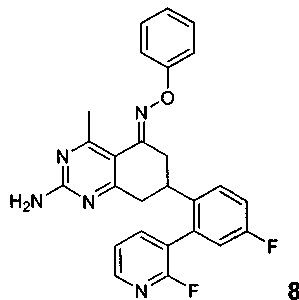


Соединение 7 получали в виде белого или беловатого порошка (90%) согласно процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-бензилгидроксиламина. R и S энантиомеры соединения 7 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 2.51 (s, 3H), 2.60-2.81 (m, 4H), 4.97 (m, 2H), 5.12 (m, 2H), 6.91 (dd, 1H), 7.16 (td, 1H), 7.26-7.39 (m, 7H), 7.65 (m, 1H), 8.25 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 472.1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 11. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-фенил оксима (соединение 8)

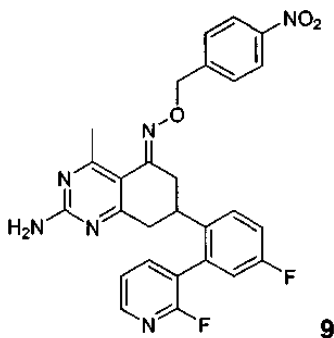


Соединение 8 получали в виде белого или беловатого порошка (90%) согласно процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-фенилгидроксиламина. R и S энантиомеры соединения 8 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 2.65-3.07 (m, 7H), 6.04 (m, 2H), 6.96 (dd, 1H), 6.99 (t, 1H), 7.11-7.25 (m, 3H), 7.26-7.35 (m, 3H), 7.44 (dd, 1H), 7.72 (m, 1H), 8.25 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 458.1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 12. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-фторпиридин-3-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-4-нитробензил оксима (соединение 9)

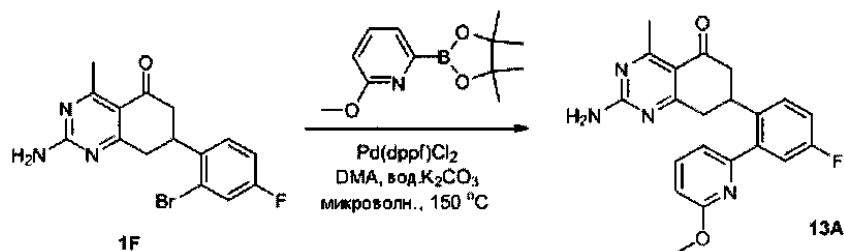


Соединение 9 получали в виде белого или беловатого порошка (90%) согласно процедуре, описанной в примере 1, с использованием О-4-нитробензил гидроксиламин. R и S энантиомеры соединения 9 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 6.

^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 2.44 (s, 3H), 2.64-6.80 (m, 3H), 3.20 (m, 2H), 5.28 (s, 2H), 7.18 (dd, 1H), 7.38 (td, 1H), 7.45 (m, 1H), 7.60 (m, 2H), 7.72 (dd, 1H), 7.99 (m, 1H), 8.25 (m, 3H).

ESI-МС: m/z 517.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Пример 13. Получение 2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (13A)

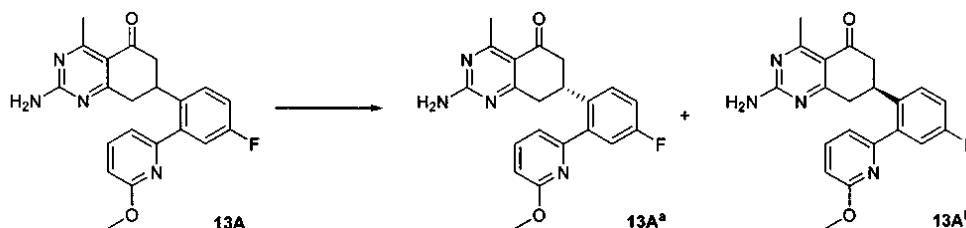


В сосуд для микроволновой обработки на 5 мл добавляли 2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он (1F (пример 1), 56 мг, 0.163 ммоль, 1.0 экв.), 2-метокси-6-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (77 мг, 0.325 ммоль, 2.0 экв.), Pd(dppf)Cl₂ (11 мг, 0.013 ммоль, 0.08 экв.), 2.0 М водный K₂CO₃ (162 мкл, 0.325 ммоль, 2.0 экв.) и диметилацетамид (2 мл). Сосуд запечатывали и нагревали в микроволновой печи при температуре 150°C в течение 10 мин. Анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Реакционную смесь фильтровали через целит и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением продукта 13A в форме белого твердого вещества (33 мг, 55%).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2.54 (s, 3H), 2.62 (ddd, J=15.73, 3.03, 2.72 Гц, 1H), 2.84-3.04 (m, 2H), 3.15-3.31 (m, 1H), 3.60-3.73 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 6.81 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.15 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.22 (dd, J=9.60, 2.78 Гц, 1H), 7.33 (td, J=8.59, 2.78 Гц, 1H), 7.55 (br. s., 2H), 7.71 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 1H), 7.81 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 379.3 (M+H)⁺.

Пример 14. Хиральное разделение R и S энантиомеров 2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (13A^a и 13A^b)



Рацемическую смесь соединения 13A разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 13A^a и соединение 13A^b, путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 150×2.1 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

A: CO₂ (1)

B: MeOH

Параметры градиента: 30% MeOH

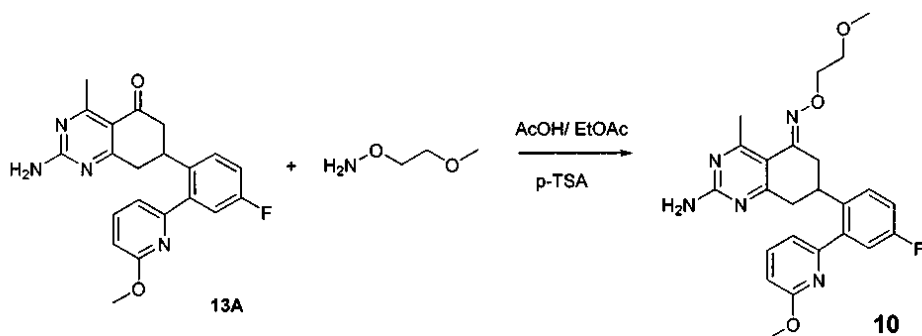
Время прогона: 10 мин

Расход: 50 мл/мин

Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 20%. Выход (R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (13A^a) составил 10%. Выход (S)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (13A^b) составил 10%.

Пример 15. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-метоксиэтил оксима (соединение 10)

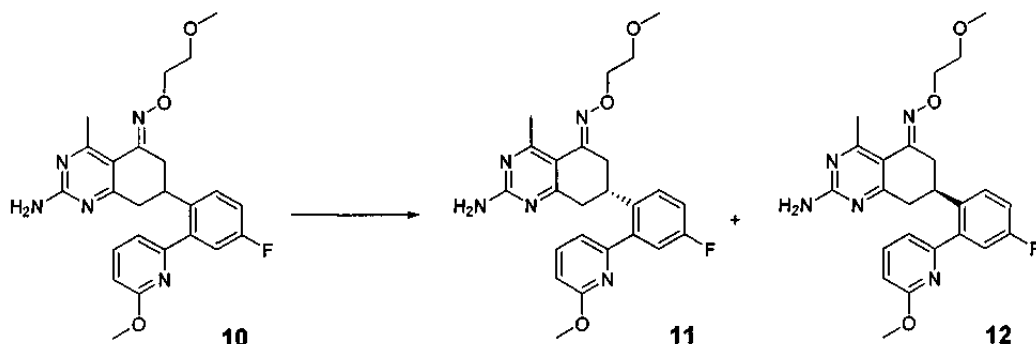


2-Амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он (13А (пример 13), 0.126 г, 0.33 ммоль) и О-(2-метоксиэтил)гидроксиламин (0.121 г, 1.33 ммоль) растворяли в 2.2 мл уксусной кислоты/этилацетата в соотношении 20/80 моль/моль с небольшим количеством р-толуолсульфоновой кислоты моногидрата (0.0127 г, 0.0666 ммоль). Реакционную смесь нагревали в масляной бане при 80-85°C в течение ночи. Продукт был очищен путем препаративной ЖХ/МС (35-50% CH₃CN в H₂O с получением (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-метоксиэтил оксим (10) в форме соли ТФА (0.067 г, 45% выход).

¹Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.58 (s, 3H), 2.60-2.69 (m, 1H), 2.73-2.83 (m, 1H), 3.17-3.22 (m, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.36 (dd, J=13.89, 2.02 Гц, 2H), 3.55 (t, J=4.67 Гц, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.17 (q, J=4.29 Гц, 2H), 6.79 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.15 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.22 (dd, J=9.73, 2.65 Гц, 1H), 7.32 (td, J=8.53, 2.65 Гц, 1H), 7.69 (dd, J=8.59, 5.81 Гц, 1H), 7.78 (t, J=7.83 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 452.2 (M+H)⁺.

Пример 16. Хиральное разделение R и S энантиомеров (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-метоксиэтил оксима (соединение 11 и соединение 12)



Рацемическая смесь соединения 10 разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 11 и соединение 12, путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 250×21.2 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

А: CO₂ (1)

В: EtOH

Параметры градиента: 30% В

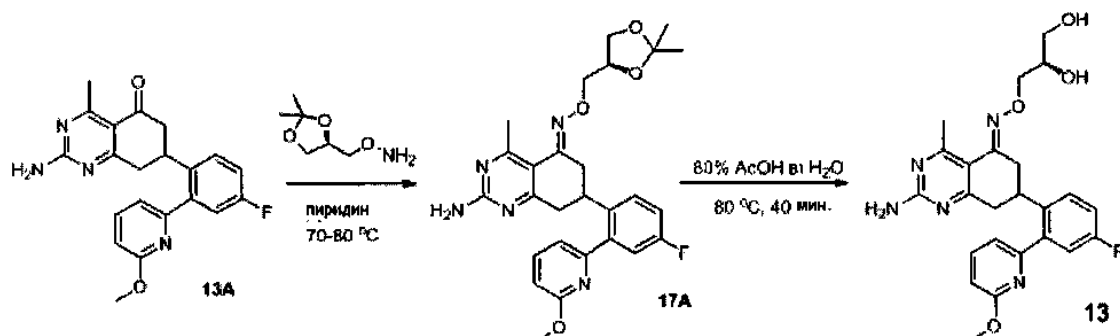
Время прогона: 15 мин

Расход: 50 мл/мин

Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 68.1%. Выход (R,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-метоксиэтил оксима (11) составил 33.6%. Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-метоксиэтил оксима (12) составил 34.5%.

Пример 17. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (соединения 13)



2-Амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он (13А (пример 13), 0.097 г, 0.256 ммоль) и R-О-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-илметил)гидроксиламин (0.113 г, 0.769 ммоль) растворяли в 2.0 мл сухого пиридина. Реакционную смесь нагревали в масляной бане при 70-80°С в течение ночи. Реакционную смесь сливали в химический стакан с ледяной водой и продукт выпадал в осадок. Затем его фильтровали и промывали H₂O с получением (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-((R)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил оксима (17А), который использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

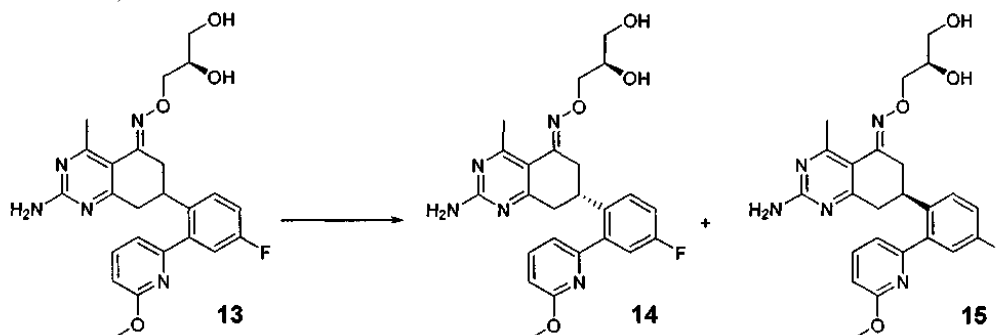
ESI-MC: m/z 508.4 (M+H)⁺.

С 17А удаляли защиту 80% раствором уксусной кислоты в воде в течение 40 мин и затем продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (30-45% CH₃CN в H₂O с получением (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (13) в форме соли ТФА (0.108 г, 89.7% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.69-2.81 (m, 4H), 3.07 (br. s., 1H), 3.15-3.25 (m, 2H), 3.36-3.63 (m, 3H), 3.81-3.86 (s, 3H), 3.87-3.97 (m, 1H), 4.21 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.42-4.54 (m, 1H), 6.75 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.06 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.09-7.17 (m, 1H), 7.17-7.27 (m, 1H), 7.57 (d, J=2.27 Гц, 1H), 7.73 (t, J=7.96 Гц, 1H).

ESI-MC: m/z 468.4 (M+H)⁺.

Пример 18. Хиральное разделение R и S энантиомеров (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (соединение 14 и соединение 15)



Рацемическую смесь соединения 13 разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 14 и соединение 15 путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 250×21.2 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

А: CO₂ (1)

В: EtOH

Параметры градиента: 20% В

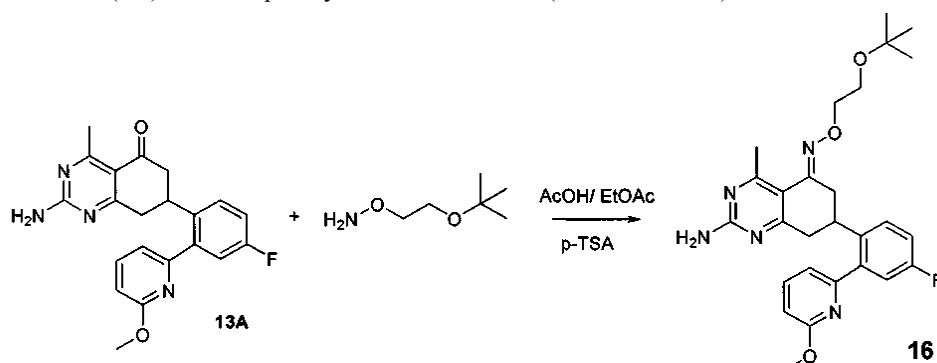
Время прогона: 25 мин

Расход: 20 мл/мин

Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 16.2%. Выход (R,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (14) составил 9.0%. Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (15) составил 7.2%.

Пример 19. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-трет-бутоксиэтил оксима (соединение 16)

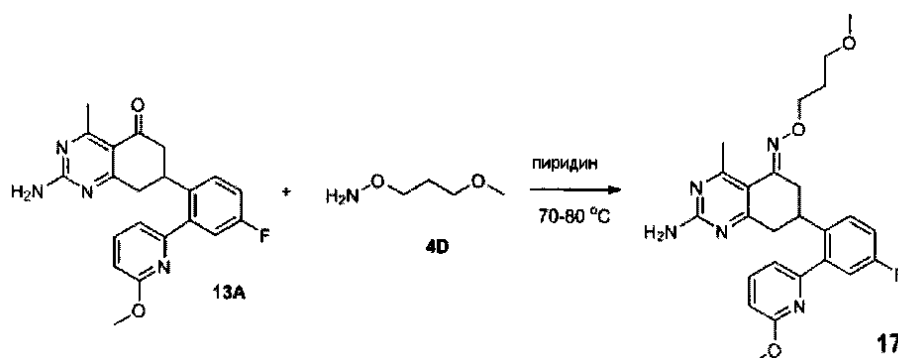


Соединение 16 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 15, с использованием О-(2-трет-бутоксиэтил)гидроксиламина. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (45-55% CH₃CN в H₂O) с получением соединения 16 в форме соли ТФА (0.0417 г, 51% выход). R и S энантиомеры соединения 16 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 16.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 1.07 (s, 9H), 2.58 (s, 3H), 2.60-2.69 (m, 1H), 2.73-2.87 (m, 1H), 3.20 (dd, J=16.04, 12.25 Гц, 1H), 3.28-3.44 (m, 2H), 3.52 (t, J=5.31 Гц, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.02-4.17 (m, 2H), 6.79 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.22 (dd, J=9.73, 2.91 Гц, 1H), 7.32 (td, J=8.53, 2.91 Гц, 1H), 7.68 (dd, J=8.59, 5.81 Гц, 1H), 7.74-7.83 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 494.3 (M+H)⁺.

Пример 20. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-3-метоксипропил оксима (соединение 17)

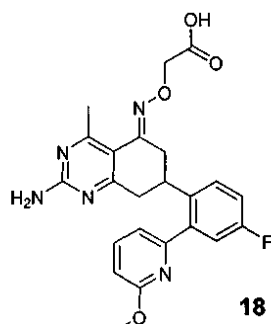


Соединение 17 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 15, с тем отличием, что использовали О-(3-метоксипропил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (50-65% CH₃CN в H₂O, с получением соединения 17 в форме соли ТФА (0.0428 г, 55.4% выход). R и S энантиомеры соединения 17 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 16.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 1.83 (t, J=6.57 Гц, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.55-2.66 (m, 1H), 2.67-2.79 (m, 1H), 3.07-3.18 (m, 1H), 3.20 (s, 3H), 3.25-3.32 (m, 2H), 3.35 (t, J=6.32 Гц, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.08 (td, J=6.44, 1.77 Гц, 2H), 6.79 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.21 (dd, J=9.60, 2.78 Гц, 1H), 7.31 (td, J=8.65, 2.91 Гц, 1H), 7.68 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 1H), 7.74-7.84 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 466.4 (M+H)⁺.

Пример 21. Получение (Е)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-илиденаминоокси)уксусной кислоты (соединение 18)



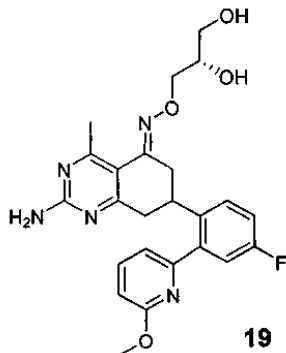
Соединение 18 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 15, с тем отличием, что была ис-

пользована 2-(аминоокси)уксусная кислота. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (40-60% CH₃CN в H₂O) с получением соединения 18 в форме соли ТФА (0.0413 г, 70% выход). R и S энантиомеры соединения 18 могут быть получены путем СЖХ с использованием процедуры, аналогичной примеру 16.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.42 (s, 3H), 2.66-2.79 (m, 3H), 3.08-3.12 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.56 (d, J=1.77 Гц, 2H), 6.79 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.21 (dd, J=9.73, 2.91 Гц, 1H), 7.26-7.36 (m, 1H), 7.66-7.73 (m, 1H), 7.74-7.83 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 452.3 (M+H)⁺.

Пример 22. Получение (E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он O-(S)-2,3-дигидроксипропил оксима (соединение 19)

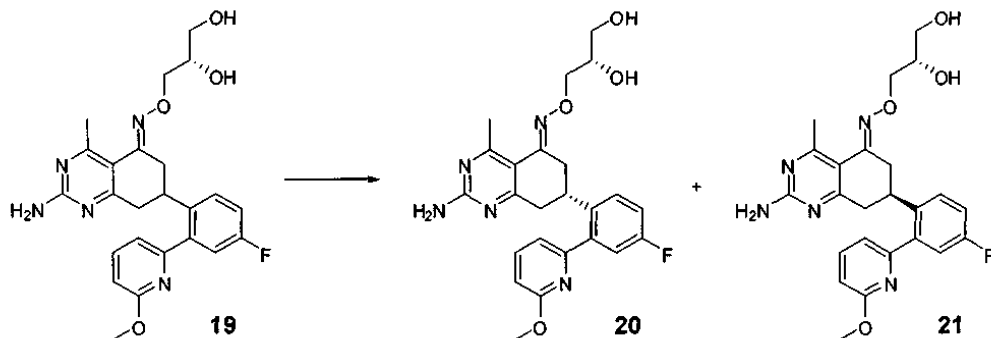


Соединение 19 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 17, с тем отличием, что использовали S-O-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-илметил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (30-40% CH₃CN в H₂O) с получением соединения 19 в форме соли ТФА (0.0818 г, 70.5% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.52 (s, 3H), 2.62 (dd, J=17.94, 14.15 Гц, 1H), 2.75 (d, J=1.01 Гц, 1H), 3.07-3.19 (m, 1H), 3.27-3.38 (m, 5H), 3.68-3.73 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.89-3.99 (m, 1H), 4.06 (ddd, J=10.86, 4.67, 3.16 Гц, 1H), 6.79 (d, J=7.83 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.21 (dd, J=9.60, 2.78 Гц, 1H), 7.32 (td, J=8.59, 2.78 Гц, 1H), 7.69 (dd, J=8.72, 5.94 Гц, 1H), 7.75-7.82 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 468.4 (M+H)⁺.

Пример 23. Хиральное разделение R и S энантиомеров (E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он O-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (соединение 20 и соединение 21)



Рацемическую смесь соединения 19 разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 20 и соединение 21 путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 250×10 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

A: CO₂ (1)

B: MeOH

Параметры градиента: 25% B

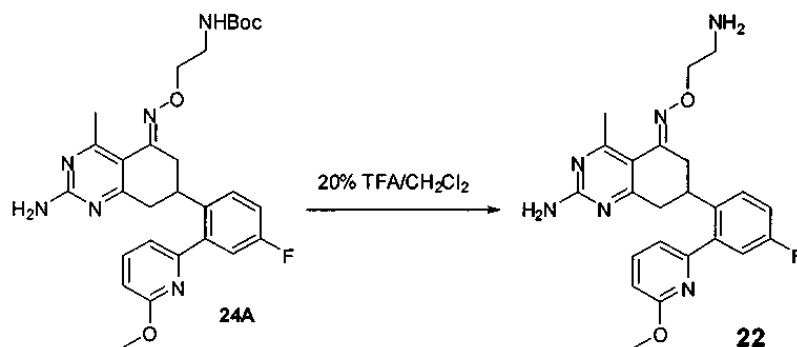
Время прогона: 15 мин

Расход: 20 мл/мин

Объем впрыска: 1000 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 34.7%. Выход (R,E)-(E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он O-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (20) составил 14.1%. Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он O-(R)-2,3-дигидроксипропил оксима (21) составил 20.6%.

Пример 24. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-аминоэтил оксима (соединение 22)

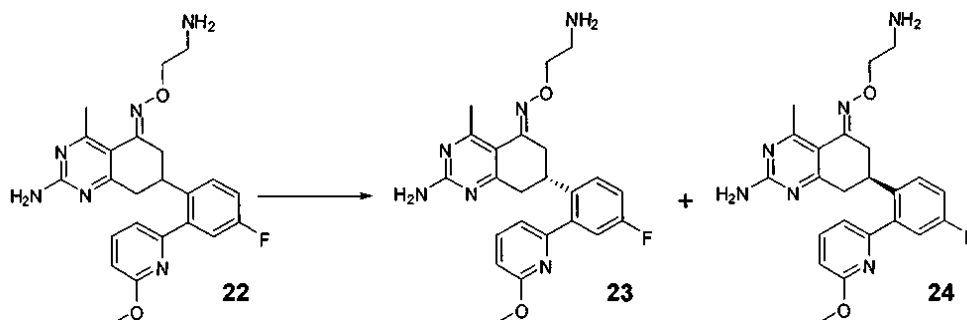


Соединение 22 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 15, с тем отличием, что использовали трет-бутил-2-(аминоокси)этилкарбамат. Окончательное удаление трет-бутоксикарбонильной защиты проводили путем обработки 24А (0.180 г, 0.019 ммоль) в 20% ТФА/CH₂Cl₂ в течение 10 мин. О завершении реакции судили по результатам анализа методом ЖХ/МС. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и остаток очищали методом препаративной ЖХ/МС (25-35% CH₃CN в H₂O) с получением продукта 22 в форме соли ТФА (0.0625 г, 75.3% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2.52 (s, 3H), 2.62-2.74 (m, 1H), 2.76-2.90 (m, 1H), 2.99-3.18 (m, 3H), 3.32 (d, J=12.38 Гц, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.20 (t, J=5.05 Гц, 2H), 6.80 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.23 (dd, J=9.73, 2.91 Гц, 1H), 7.33 (td, J=8.53, 2.91 Гц, 1H), 7.69 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 1H), 7.74-7.86 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 437.4 (M+H)⁺.

Пример 25. Хиральное разделение R и S энантиомеров (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-аминоэтил оксима (соединение 23 и соединение 24)



Рацемическую смесь соединения 22 разделяли на его R и S энантиомеры, соединение 23 и соединение 24, путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD-H, 250×10 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

А: CO₂ (1)

В: MeOH + 10 мм NH₄Oac

Параметры градиента: 30% В

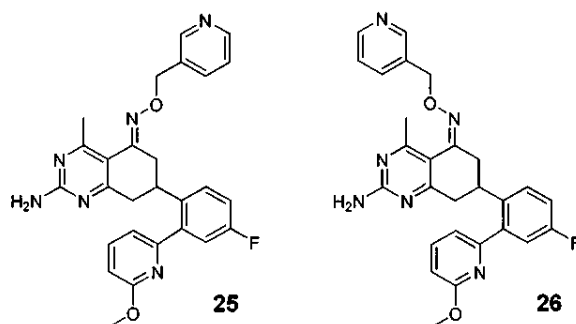
Время прогона: 8 мин

Расход: 20 мл/мин

Объем впрыска: 75 мкл.

Общий выход для двух энантиомеров составил 23%. Выход (R,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-аминоэтил оксима (23) составил 9.2%. Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-2-аминоэтил оксима (24) составил 13.9%.

Пример 26. Получение (Е) и (Z) Изомеров 2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-пиридин-3-илметил оксима (соединение 25 и соединение 26)



Рацемическую смесь, содержащую соединения 25 и 26, получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 15, с тем отличием, что использовали О-(пиридин-3-илметил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (25-40% CH₃CN в H₂O) с получением продукта в форме соли ТФА. Е и Z изомеры разделяли методом препаративной ЖХ/МС (25-40% CH₃CN в H₂O) с общим выходом 71.6%.

Выход (Е) 2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-пиридин-3-илметил оксима (25) составил 0.0398 г, 50.2%.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.37 (s, 3H), 2.58-2.83 (m, 2H), 3.12 (dd, J=16.04, 12.25 Гц, 1H), 3.32 (dd, J=13.26, 3.92 Гц, 2H), 3.67 (s, 3H), 5.20 (d, J=3.03 Гц, 2H), 6.78 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.14 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.21 (dd, J=9.60, 2.78 Гц, 1H), 7.31 (td, J=8.53, 2.91 Гц, 1H), 7.63-7.73 (m, 2H), 7.78 (t, J=7.83 Гц, 1H), 8.11 (d, J=7.58 Гц, 1H), 8.68 (br. s., 1H), 8.74 (s, 1H).

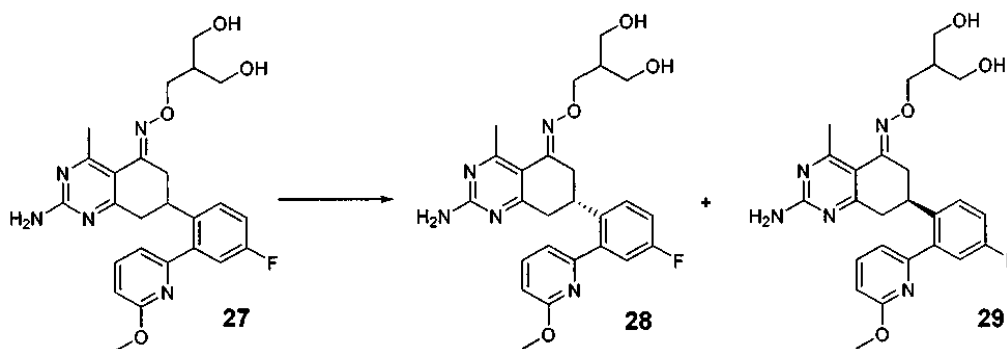
ESI-МС: m/z 485.4 (M+H)⁺.

Выход (Z) 2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-пиридин-3-илметил оксима (26) составил 0.017 г, 21.4%.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.12 (s, 3H), 2.63-2.71 (m, 1H), 2.72-3.00 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 5.11 (s, 2H), 6.83 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.18 (dd, J=9.73, 2.91 Гц, 1H), 7.26 (td, J=8.53, 2.91 Гц, 1H), 7.57 (ddd, J=13.71, 8.40, 5.43 Гц, 1H), 7.73-7.88 (m, 1H), 7.96 (d, J=7.33 Гц, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.79 (br. s., 1H).

ESI-МС: m/z 485.4 (M+H)⁺.

Пример 27. Получение (Е)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6Н)-он О-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксима (соединение 27) и хиральное разделение энантиомеров



Соединение 27 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 17, с тем отличием, что использовали О-((2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (35-40% CH₃CN в H₂O) с получением соединения 17 в форме соли ТФА (0.109 г, 42.9% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 1.89 (m, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.54 (m, 1H), 2.67 (br. s., 2H), 3.07 (d, J=15.66 Гц, 1H), 3.25 (m, 1H), 3.41 (q, J=5.31 Гц, 4H), 3.75 (s, 3H), 4.03 (d, J=8.00 Гц, 2H), 4.39 (q, J=4.97 Гц, 2H), 6.79 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.13 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.20 (dd, J=9.60, 2.53 Гц, 1H), 7.25-7.35 (m, 1H), 7.68 (dd, J=8.59, 5.81 Гц, 1H), 7.74-7.83 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 482.4 (M+H)⁺.

Р и S энантиомеры соединения 27 разделяли путем СЖХ при следующих условиях:

Колонка ChiralPak AD, 250×10 мм, 5 мкм

Подвижная фаза:

А: CO₂ (1)

В: ИОН

Параметры градиента: 40% В

Время прогона: 12 мин

Расход: 15 мл/мин

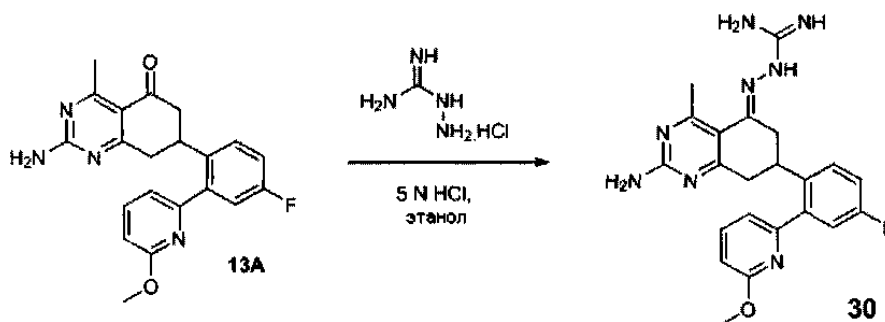
Объем впрыска: 500 мкл.

Общий выход для двух энантимеров составил 50.3%.

Выход (R,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксима (28) составил 27.9%.

Выход (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксима (29) составил 22.4%.

Пример 28. Получение (E)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-илиден)гидразинкарбоксимида (соединение 30)

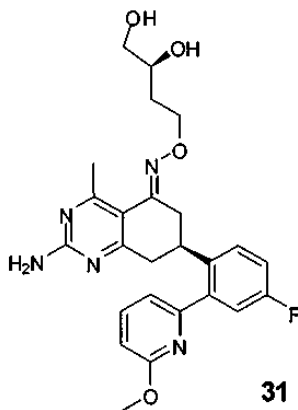


Кетон 13А ((пример 13) 0.100 г), амингуанидин гидрохлорид (0.0876 г, 3 экв.) и 5N HCl (5 экв.) растворяли в этаноле и нагревали в масляной бане при температуре 90°C в течение 2 ч. Сырой продукт затем очищали методом препаративной ЖХ/МС (40-45% CH₃CN в H₂O) с получением (E)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-илиден)гидразинкарбоксимида (30) в форме соли ТФА (0.0617 г, 53.6% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2.64 (s, 3H), 2.70-2.82 (m, 2H), 3.15-3.33 (m, 2H), 3.48 (br. s., 1H), 3.73 (s, 3H), 6.80 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.17 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.25 (dd, J=9.73, 2.65 Гц, 1H), 7.33-7.40 (m, 1H), 7.74-7.86 (m, 2H), 10.74 (s, 1H).

ESI-МС: m/z 435.4 (M+H)⁺.

Пример 29. Получение (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксипропил оксима (соединение 31)

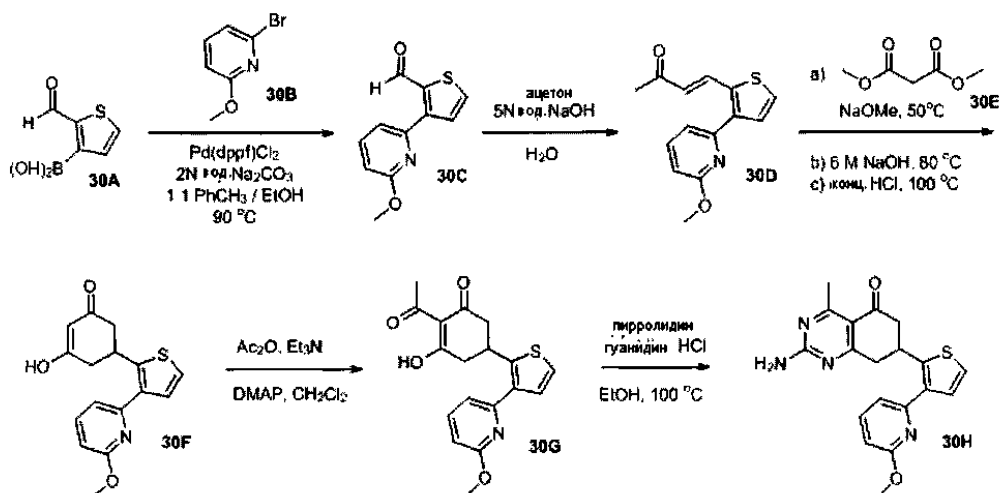


Соединение 31 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 17, с тем отличием, что использовали (S)-О-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом препаративной ЖХ/МС (CH₃CN в H₂O) с получением (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксипропил оксима в форме соли ТФА (31, 4.5 мг, 7.1% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.17-1.37 (m, 1H), 2.46-2.64 (m, 4H), 2.81-2.99 (m, 2H), 3.25-3.53 (m, 3H), 3.58-3.66 (m, 1H), 3.77-3.96 (m, 4H), 4.16-4.38 (m, 3H), 5.18 (br. s., 2H), 6.66-6.78 (m, 1H), 6.95 (dd, J=7.33, 4.29 Гц, 1H), 7.02-7.22 (m, 2H), 7.31-7.44 (m, 1H), 7.55-7.68 (m, 1H).

[M+H] расч. для C₂₅H₂₈FN₅O₄, 482; эксп., 482.

Пример 30. Получение 2-амино-7-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (30H)



А. Синтез 3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-карбальдегида (30С).

В сосуд на 500 мл добавляли 2-формилтиофен-3-бороновую кислоту (30А, 5,00 г, 32,1 ммоль, 1,0 экв.), 2-бром-6-метоксипиридин (30В, 6,03 г, 32,1 ммоль, 1,0 экв.), толуол (100 мл), EtOH (100 мл), натрия гидрокарбонат (2N, 32 мл, 64 ммоль, 2,0 экв.) и Pd(dppf)Cl₂ (1,17 г, 1,6 ммоль, 0,05 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при температуре 90 °С. Реакционную смесь охлаждали, добавляли насыщенный водный NaCl (100 мл) и смесь перемешивали в течение 20 мин. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc (2×100 мл) и полученные органические фазы объединяли и пропускали через целитную пластинку, чтобы удалить оставшийся Pd. Органические фазы промывали последовательно H₂O (100 мл) и насыщенным водным NaCl (100 мл), а затем сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением пористого коричневого твердого вещества, которое использовали на следующем этапе без дополнительной очистки (6,2 г, 88%).

ESI-МС: m/z 220.2 (M+H)⁺.

В. Синтез (Е)-4-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)бут-3-ен-2-она (30D).

В испарительную колбу на 500 мл добавляли 3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-карбальдегид (30С, 6,2 г, 28,3 ммоль, 1,0 экв.), ацетон (16,6 мл, 226 ммоль, 8,0 экв.) и H₂O (130 мл). После охлаждения до 0 °С в ледяной ванне добавляли водный NaOH (5N, 6,2 мл, 31,1 ммоль, 1,1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, разогревая при этом до комнатной температуры. Мониторинг методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена на ~60%, после чего добавляли дополнительный водный NaOH (5N, 1 мл, 5,0 ммоль, 0,18 экв.). После перемешивания в течение дополнительных 6 ч согласно результатам ЖХ/МС реакция была завершена. Реакционную смесь нейтрализовали 3N водного HCl до уровня pH ~8. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Органические фазы объединяли и промывали насыщенным водным NaCl (100 мл). Объединенные водные фазы экстрагировали EtOAc (100 мл). Органические фазы объединяли и сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением черного твердого вещества. Остаток очищали методом флэш-хроматографии (60% CH₂Cl₂/гексан до 100% CH₂Cl₂) с получением желтого твердого вещества 30D (4,8 г, 67%).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2.29 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 6.59 (d, J=15.92 Гц, 1H), 6.84 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.41 (d, J=7.58 Гц, 1H), 7.60 (d, J=5.31 Гц, 1H), 7.75-7.88 (m, 2H), 8.71 (d, J=15.92 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 260.3 (M+H)⁺.

С. Синтез 3-гидрокси-5-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)циклогекс-2-энона (30F).

В испарительную колбу на 200 мл добавляли (Е)-4-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)бут-3-ен-2-он (30D, 4,81 г, 18,6 ммоль, 1,0 экв.), MeOH (100 мл) и диметилмалонат (30Е, 2,13 мл, 18,6 ммоль, 1,0 экв.). Добавляли NaOMe (30 мас.% в MeOH, 3,66 мл, 19,5 ммоль, 1,05 экв.) и перемешивали реакционную смесь в течение ночи при нагревании в колбе с обратным холодильником. Анализ методом ЖХ/МС показывал желаемое промежуточное соединение и смесь концентрировали, а затем разбавляли водным раствором 1 N водный NaOH (100 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до 0 °С в ледяной ванне и подкисляли 1 N HCl с получением кислой среды. Реакционную смесь перемешивали при 80 °С в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры добавляли EtOAc (200 мл) и органическую фазу промывали насыщенным водным NaCl (100 мл). Объединенные водные фазы экстрагировали EtOAc (100 мл). Объединенные органические фазы сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением пенистого коричневого твердого вещества 30F, которое использовали на следующем этапе без дополнительной очистки (4,9 г, 88%).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.67 (m, 3H), 3.79 (s, 3H), 4.54-4.70 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 6.73 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.31 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.39-7.54 (m, 2H), 7.76 (t, J=7.83 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 302.3 (M+H)⁺.

D. Синтез 2-ацетил-3-гидрокси-5-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)циклогекс-2-энона (30G)

В испарительную колбу на 200 мл добавляли 3-гидрокси-5-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)циклогекс-2-энон (30F, 4.9 г, 16.3 ммоль, 1.0 экв.), CH₂Cl₂ (100 мл), уксусный ангидрид (2.15 г, 21.1 ммоль, 1.3 экв.), Et₃N (6.8 мл, 48.8 ммоль, 3.0 экв.) и ДМАП (катализатическое количество). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, после чего анализ методом ЖХ/МС показал два сигнала, соответствующих M+H = 344. Дополнительно добавляли уксусный ангидрид (0.5 мл, 5.3 ммоль, 0.32 экв.) и реакционную смесь нагревали в течение 6 ч при температуре 40°C. Анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена, после чего смесь концентрировали до твердого вещества и очищали методом флэш-хроматографии (70% CH₂Cl₂/Гексан до 100% CH₂Cl₂) с получением темно-оранжевого твердого вещества 30G (1.72 г, 31%).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.52-2.57 (m, 3H), 2.83 (m, 2H), 3.09 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.68 (m, 1H), 6.74 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.32 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.41-7.47 (m, 1H), 7.51 (d, J=5.31 Гц, 1H), 7.76 (t, J=7.96 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 344.3 (M+H)⁺.

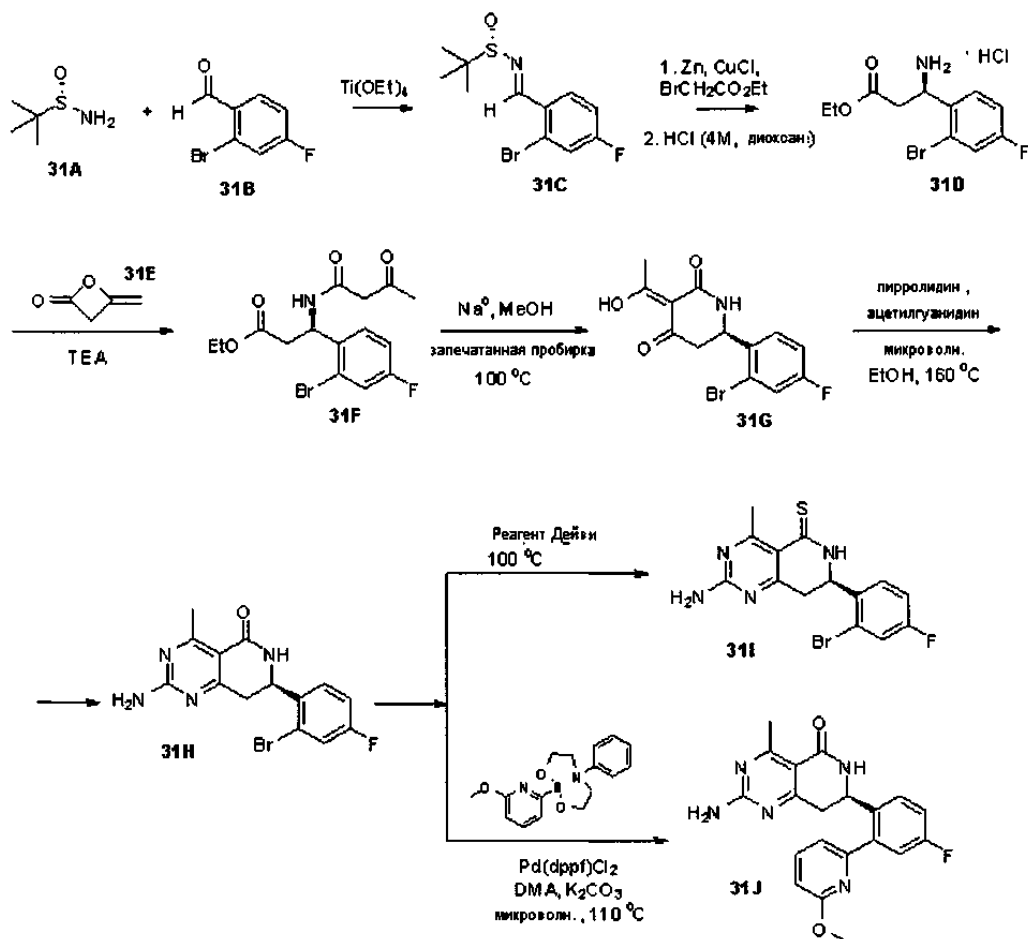
E. Синтез 2-амино-7-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-она (30H)

В 150-мл сосуд для работы под давлением добавляли 2-ацетил-3-гидрокси-5-(3-(6-метоксипиридин-2-ил)тиофен-2-ил)циклогекс-2-энон (30G, 1.72 г, 5.01 ммоль, 1.0 экв.), EtOH (50 мл), пирролидин (2.13 г, 30.1 ммоль, 6.0 экв.), гуанидин гидрохлорид (1.44 г, 15 ммоль, 3.0 экв.). Сосуд закрывали и нагревали в течение ночи при 100°C. Анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена, после чего реакционную смесь концентрировали и остаток разбавляли 20% EtOAc/CH₂Cl₂. Нерастворимое твердое вещество, не являющееся продуктом, отфильтровывали. Оставшийся фильтрат очищали методом колоночной хроматографии (20% EtOAc/CH₂Cl₂ до 70% EtOAc/CH₂Cl₂) с получением продукта 30H в форме светло-серого твердого вещества (270 мг, 15%).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.55 (s, 3H), 2.76-2.95 (m, 2H), 3.02-3.22 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.62-4.77 (m, 1H), 6.72 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.31 (d, J=7.58 Гц, 1H), 7.41-7.54 (m, 4H), 7.75 (t, J=7.83 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 367.3 (M+H)⁺.

Пример 31. Получение (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидро-6Н-пиридо[4,3-*d*]пиримидин-5-тион (31I) и (R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6H)-она (31J)



А. Синтез (S)-2-метилпропан-2-сульфиновая кислота 1-(2-бром-4-фторфенил)метил-(Е)-ил идена-мила (31C).

(S)-трет-бутансульфинамид (31А, 9.9 г, 81.6 ммоль), 2-бром-4-фтор-бензальдегид (31В, 15.5 г, 76 ммоль) и титана тетраэтоксид (34 мл) помещали в сосуд с круглым дном на 500 мл, содержащий ТГФ (сухой, 50 мл). Реакционную смесь допускать перемешивать при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего реакция считается завершенной согласно результатам анализа методом ЖХ/МС. EtOAc (200 мл), солевой раствор (150 мл) и целит добавляли и перемешивали в течение 1 ч. Гетерогенную смесь фильтровали через целитную пластину и промывали EtOAc. Органическую фазу промывали соевым раствором и сушили (Na_2SO_4), затем концентрировали под вакуумом с получением продукта 31С в форме вязкого масла (23.3 г, 99% выход). 31С использовали на следующем этапе без дальнейшей очистки.

В. Синтез (R)-3-амино-3-(2-бром-4-фторфенил)пропионовой кислоты этилового эфира (31D).

В трехгорлый сосуд на 500 мл, сверху оборудованный мешалкой, капельной воронкой на 150 мл и обратным конденсатором, помещали ТГФ (сухой, 150 мл), Zn (74.5 г, 1.14 моль, размер частиц 10 мкм) и CuCl (11.3 г, 114 ммоль) в атмосфере N_2 . Гетерогенную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч, одновременно, интенсивно при перемешивании. После охлаждения до комнатной температуры добавляли этил бромацетат (12.61 мл, 114 ммоль) и реакционную смесь держали при температуре 50 °C в течение 1 ч, а затем охлаждали до 0 °C. 31С (23.3 г, 76 ммоль) добавляли ТГФ (сухой, 80 мл) через капельную воронку в течение 10 мин. Реакционную смесь затем держали при 0 °C в течение 4 ч, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч. Гетерогенную смесь фильтровали через целитную пластину и промывали EtOAc. Органическую фазу промывали лимонной кислотой (1М), NaHCO_3 , соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением 24.3 г светло-желтого твердого вещества. Твердое вещество добавляли в диэтилэфир (200 мл), EtOH (5 мл) и HCl (38 мл, 4М диоксан). Через 30 мин продукт 31D выпадал в осадок и его фильтровали, твердое вещество промывали избытком диэтилэфира, сушили под высоким вакуумом с получением β-амино эфир HCl соли с большим выходом (15.6 г, 47.7 ммоль, 63%). Стоковый раствор содержал дополнительные 1.9 г (6.5 ммоль, 8.5%) свободного основания после нейтрализации и колоночной хроматографии (1-5%, MeOH в ДХМ).

ESI-МС: m/z 290.01 (MH^+).

С. Синтез (R)-3-(2-бром-4-фторфенил)-3-(3-оксо-бутириламино)пропионовой кислоты этил эфира (31F).

В 500-мл сосуд с круглым дном, содержащий 31D (13.3 г, 41 ммоль) в 200 мл ДХМ и ТЭА (22.8 мл, 3 экв.), добавляли дикетен (31Е, 8.81 мл, 50% в ДХМ). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре до завершения реакции (2 ч, согласно результатам анализа методом ЖХ/МС). Реакционную смесь промывали 1 N $NaHSO_4$, соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением соединения 31F в форме желтого твердого вещества (15.3 г, 99%).

ESI-МС: m/z 374.0 (MH^+).

D. Синтез (R,E)-6-(2-бром-4-фторфенил)-3-(1-гидроксиэтилиден)пиперидин-2,4-диона (31G).

В сосуд, содержащий 30 мл сухого MeOH, добавляли металлический натрий (1.00 г, 43.5 ммоль, 3.4 экв.). Реакционную смесь интенсивно перемешивали до растворения натрия. В сосуд для работы под давлением, содержащий 31F (4.81 г, 12.9 ммоль, 1.0 экв.), в MeOH (50 мл) добавляли только что приготавленный раствор NaOMe. Сосуд для работы под давлением запечатывали и нагревали при 100°C в течение ночи. Анализ методом ЖХ/МС показал сигнал продукта как преобладающий. Реакционную смесь концентрировали и затем разбавляли метилхлоридом (500 мл) и водный 1 N NH_4Cl (100 мл). Органическую фазу далее промывали водным 1 N NH_4Cl (100 мл) и насыщенным водным NaCl (100 мл). Объединенные водные фазы экстрагировали метилхлоридом (2×75 мл). Объединенные органические фазы сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением темно-желтого твердого вещества 31G которое считалось достаточно чистым для использования в следующей реакции без дальнейшей очистки (2.05 г, 49%).

ESI-МС: m/z 328.2 ($M+H^+$).

E. Синтез (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-она (31H).

В сосуд для микроволновой обработки, содержащий ацетилгуанидин (800 мг, 7.9 ммоль), добавляли пирролидин (3.25 мл, 39 ммоль), 5 мл EtOH и 31G (1.3 г, 3.9 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при температуре 160°C в течение 10 мин. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и промывали 1 M $NaHSO_4$ (40 мл×2), соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , концентрировали под вакуумом. Полученное твердое вещество очищали методом колоночной хроматографии (в пределах 2-5% MeOH в ДХМ) с получением продукта 31H в форме светло-желтого кристаллического твердого вещества (989 мг, 72%).

1H -ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ ppm 2.61 (s, 3H), 2.83 (dd, $J=16.29$, 5.94 Гц, 1H), 3.22 (dd, $J=16.42$, 6.06 Гц, 1H), 4.84-5.06 (m, 1H), 7.11 (br. s., 2H), 7.19-7.40 (m, 2H), 7.61 (dd, $J=8.59$, 2.53 Гц, 1H), 7.98 (d, $J=3.28$ Гц, 4H).

ESI-МС: m/z 351.0 (MH^+).

F. Синтез (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидро-6H-пиридо[4,3-d]пиримидин-5-тиона (31I).

В сосуд на 4 мл, содержащий 31H и 2 мл DME, добавляли реагент Деви (250 мг, 0.71 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 20 мин. Сырую смесь непосредственно помещали в кварцевую колонку на 12 г и разбавляли (2-4% MeOH in ДХМ) с получением тиолактама 31I с умеренным выходом (134 мг, 52%).

ESI-МС: m/z 367.0 (MH^+).

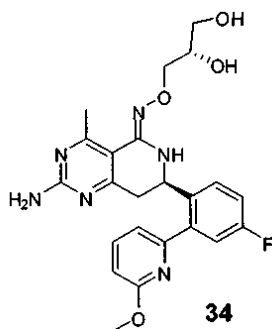
G. Синтез (R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-она (31J).

В сосуд для микроволновой обработки на 5 мл добавляли 31H (700 мг, 1.99 ммоль, 1.0 экв.), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокан (1.43 г, 4.78 ммоль, 2.4 экв.), $Pd(dppf)Cl_2$ (73 мг, 0.0997 ммоль, 0.05 экв.), K_2CO_3 (826 мг, 5.98 ммоль, 3.0 экв.) и диметилацетамид (10 мл). Сосуд запечатывали и нагревали в микроволновой печи при температуре 110°C в течение 30 мин. Анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Реакционную смесь разбавляли метанолом, фильтровали и очищали путем препаративной ВЭЖХ с получением продукта 31J в форме белого твердого вещества (618 мг, 81.7% выход).

1H -ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ ppm 2.58 (s, 3H), 2.80-2.95 (m, 1H), 3.08-3.22 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 5.15 (br. s., 1H), 6.86 (d, $J=7.58$ Гц, 1H), 7.18 (d, $J=6.82$ Гц, 1H), 7.23-7.33 (m, 2H), 7.55 (dd, $J=8.59$, 5.81 Гц, 1H), 7.84 (dd, $J=8.34$, 7.33 Гц, 2H).

ESI-МС: m/z 380.2 ($M+H^+$).

Пример 33. Получение (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-2,3-дигидроксипропил оксима (соединение 34)

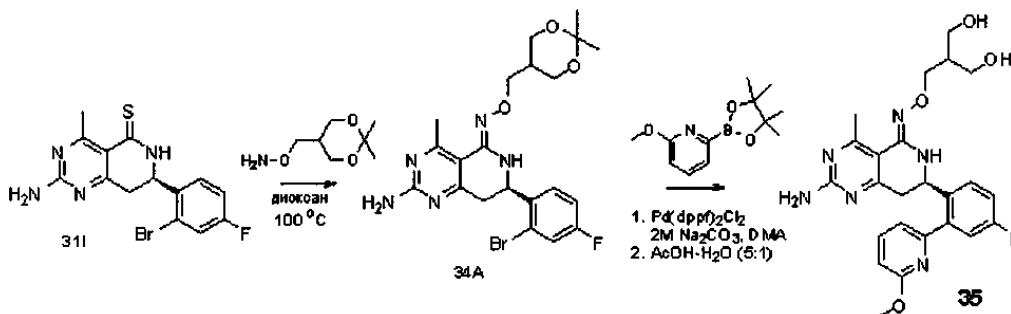


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 32, с тем отличием, что использовали (S)-О-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)гидроксиламин.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.63 (s, 3H), 2.97-3.14 (m, 1H), 3.16-3.28 (m, 1H), 3.55-3.68 (m, 1H), 3.68-3.76 (m, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.97-4.20 (m, 3H), 4.90 (dd, $J=10.23$, 3.92 Гц, 1H), 5.26 (br. s., 2H), 5.83 (s, 1H), 6.74 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.00 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 7.07-7.22 (m, 2H), 7.52-7.76 (m, 2H).

ESI-МС: m/z 469.2 ($M+H^+$).

Пример 34. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксима (соединение 35)



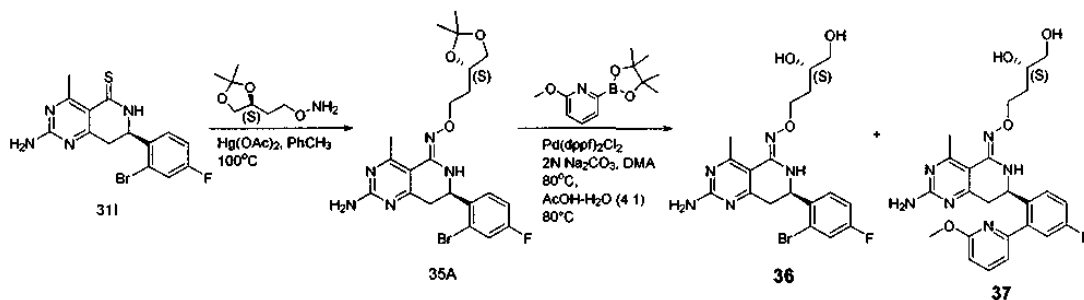
Указанное в названии соединение 35 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 32, с тем отличием, что использовали О-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-5-ил)метил)гидроксиламин. Сырой продукт очищали методом ВЭЖХ с обращенной фазой (5 мг, 20-75% H_2O -AcCN, 10 мм $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$) с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксима (35, 5 мг, 2.9% выход).

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1.88-2.05 (m, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.81 (dd, $J=16.17$, 7.33 Гц, 1H), 3.03 (dd, $J=16.04$, 4.93 Гц, 1H), 3.42-3.50 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.93 (dd, $J=6.32$, 2.53 Гц, 2H), 4.29-4.39 (m, 2H), 5.00-5.10 (m, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 6.85 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.19 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.21-7.32 (m, 2H), 7.49 (dd, $J=8.59$, 5.81 Гц, 1H), 7.84 (t, $J=7.83$ Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 483.3 ($M+H^+$).

Пример 35. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксибутил оксима (соединение 36) и

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксибутил оксима (соединение 37)



Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (311, 100 мг, 0.3 ммоль), (S)-О-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламина (194 мг, 1.2 ммоль), $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ (192 мг, 0.6 ммоль) и безводного толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 1 ч. Анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Реакционную смесь охлаждали, фильтровали

через целит и промывали этилацетатом. Фильтрат концентрировали и полученный маслянистый осадок очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил оксима (35A, 87 мг, 65%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.35 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 2.01 (qd, J=6.32, 3.03 Гц, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.95 (dd, J=16.42, 8.84 Гц, 1H), 3.18 (dd, J=17.18, 5.05 Гц, 1H), 3.56-3.62 (m, 1H), 4.09 (dd, J=7.96, 5.94 Гц, 1H), 4.16-4.28 (m, 2H), 4.98 (ddd, J=8.78, 4.61, 1.52 Гц, 1H), 7.07 (td, J=8.21, 2.53 Гц, 1H), 7.34 (dd, J=8.08, 2.53 Гц, 1H), 7.68 (dd, J=12.00, 6.95 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₁H₂₆BrFN₅O₃, 494.11; эксп., 494.00.

Смесь указанных выше соединений (83.0 мг, 0.17 ммоль), 2-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (80.0 мг, 0.34 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (14 мг, 0.017 ммоль), 2 N Na₂CO₃ (0.42 мл, 0.85 ммоль) в DMA (2 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 80°C в течение 2.5 ч. Анализ методом ЖХ/МС показал смесь в пропорции 1:1 исходного материала и продукта. Реакционную смесь охлаждали, фильтровали через целит и промывали 1:1 MeOH-CH₂Cl₂. Фильтрат концентрировали и остаток растворяли в 4:1 смеси AcOH-H₂O и нагревали при 80°C в течение 30 мин. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ (базовый режим) с получением соединений 36 и 37.

Соединение 36. (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксипропан оксим (36, 8.0 мг).

¹H-ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 1.68-1.80 (dddd, J=14.31, 8.75, 5.65, 5.65 Гц, 1H), 2.02 (dddd, J=14.24, 7.74, 6.44, 3.92 Гц, 1H), 2.85 (s, 3H), 3.18 (dd, J=16.93, 6.57 Гц, 1H), 3.37 (dd, J=16.80, 5.43 Гц, 1H), 3.43-3.55 (m, 2H), 3.72-3.82 (m, 1H), 4.18-4.31 (m, 2H), 5.14 (t, J=5.94 Гц, 1H), 7.15 (td, J=8.40, 2.65 Гц, 1H), 7.39 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 1H), 7.46 (dd, J=8.34, 2.78 Гц, 1H).

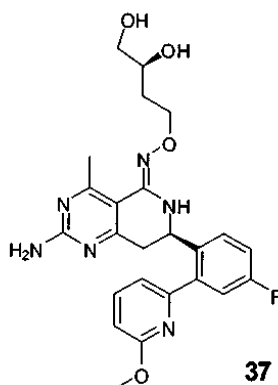
МС (ES) [M+H] расч. для C₁₈H₂₂BrFN₅O₃, 454.29; эксп., 454.20.

Соединение 37. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксипропан оксим (37, 8.0 мг).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.53-1.58 (m, 1H), 1.69-1.73 (m, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.79-2.87 (m, 1H), 2.93-2.98 (m, 1H), 3.22-3.28 (m, 1H), 3.35-3.38 (m, 1H), 3.54-3.60 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.94-4.00 (m, 2H), 4.69 (ddd, J=10.23, 3.03, 2.91 Гц, 1H), 6.55 (dd, J=8.34, 2.53 Гц, 1H), 6.84 (dd, J=7.33, 2.53 Гц, 1H), 6.94-7.00 (m, 2H), 7.43-7.52 (m, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₄H₂₈FN₆O₄, 483.50; эксп., 483.30.

Пример 36. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксипропан оксима (соединение 37)

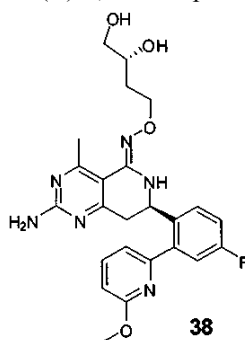


Соединение 37 синтезировали, следуя процедуре, аналогичной примеру 39, с тем отличием, что использовали (S)-О-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламин.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.43-1.55 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.83-2.95 (m, 2H), 3.11-3.44 (m, 1H), 3.17-3.24 (m, 1H), 3.27-3.33 (m, 1H), 3.48-3.56 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.89-4.01 (m, 2H), 4.68 (ddd, J=10.23, 3.03, 2.91 Гц, 1H), 6.53 (dd, J=8.34, 2.53 Гц, 1H), 6.81 (dd, J=7.33, 2.53 Гц, 1H), 6.90 (dt, J=9.28, 2.68 Гц, 1H), 6.96 (td, J=8.40, 2.65 Гц, 1H), 7.38-7.43 (m, 1H), 7.44-7.51 (m, 1H).

МС (ES) [M+H]⁺ расч. для C₂₄H₂₈FN₆O₄, 483.21; эксп., 483.00.

Пример 37. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(R)-3,4-дигидроксибутил оксим (соединение 38)

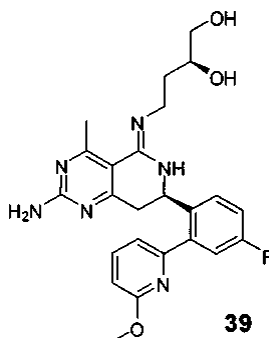


Соединение 38 синтезировали, следуя процедуре, аналогичной примеру 39, с тем отличием, что использовали (R)-О-(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил)гидроксиламин.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.74-1.93 (m, 1H), 2.13-2.16 (m, 1H), 2.66 (s, 3H), 3.00-3.11 (m, 1H), 3.14-3.24 (m, 1H), 3.32 (d, $J=3.03$ Гц, 1H), 3.50 (ddd, $J=11.18, 7.01, 4.55$ Гц, 1H), 3.65 (ddd, $J=10.74, 6.95, 3.54$ Гц, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.13-4.28 (m, 2H), 4.88 (dd, $J=10.61, 4.04$ Гц, 1H), 5.11 (s, 2 ч, OH), 5.72 (s, 1 ч, NH), 6.74 (d, $J=8.84$ Гц, 1H), 7.00 (d, $J=7.83$ Гц, 1H), 7.10-7.22 (m, 2H), 7.61-7.70 (m, 2H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{24}H_{28}FN_6O_4$, 483.21; эксп., 483.30.

Пример 38. (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)амино)бутан-1,2-диол (соединение 39)

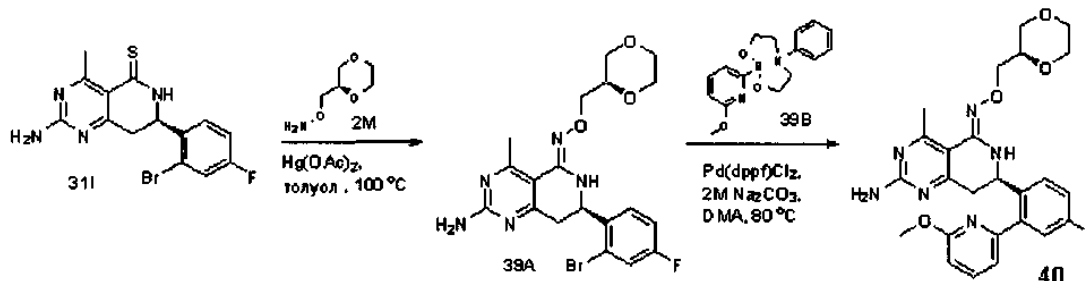


Соединение 39 синтезировали, следуя процедуре, аналогичной примеру 39, с тем отличием, что использовали (S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанамин (2O, пример 2-F).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.55-1.68 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.66-2.78 (m, 2H), 3.16 (dd, $J=16.17, 3.54$ Гц, 1H), 3.25 (ddd, $J=14.08, 4.29, 4.11$ Гц, 1H), 3.41-3.49 (m, 1H), 3.52-3.59 (m, 1H), 3.65-3.78 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 4.83 (dd, $J=12.63, 3.03$ Гц, 1H), 5.30 (br. s., 2H, OH), 6.70 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.10 (dd, $J=9.47, 2.65$ Гц, 1H), 7.17 (td, $J=8.27, 2.65$ Гц, 1H), 7.62 (t, $J=7.83$ Гц, 1H), 7.80 (dd, $J=8.59, 5.81$ Гц, 1H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{24}H_{28}FN_6O_3$, 467.21; эксп., 467.30.

Пример 39. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил оксима (соединение 40)



Тиолактam (31I (пример 31), 0.087 г, 0.0272 ммоль), (R)-О-((1,4-диоксан-2-ил)метил)гидроксиламин (2M (пример 2-E), 0.145 г, 1.09 ммоль) и ацетат ртути(II) (0.173 г, 0.045 ммоль) растворяли в 3.5 мл сухого толуола и нагревали в масляной бане при температуре 100°C в течение 1 ч. О завершении реакции судили по результатам анализа методом ЖХ/МС. Сырую смесь фильтровали через целит, промывали метанолом, а затем концентрировали и очищали методом препаративной ЖХ/МС (25-55% CH_3CN в H_2O) с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил оксима (39А, 0.0405 г, 36.7% выход).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформа-d) δ ppm 2.90 (s, 3H), 3.04 (dd, $J=17.05, 8.97$ Гц, 2H), 3.28 (dd,

$J=17.56$, 4.17 Гц, $1H$), 3.43 (dd, $J=11.62$, 9.85 Гц, $1H$), $3.58-3.68$ (m, $1H$), $3.70-3.76$ (m, $2H$), $3.77-3.88$ (m, $2H$), $3.93-4.00$ (m, $1H$), $4.01-4.08$ (m, $1H$), $4.09-4.18$ (m, $1H$), 5.01 (d, $J=5.05$ Гц, $1H$), 5.78 (s, $1H$), 7.11 (td, $J=8.21$, 2.53 Гц, $1H$), 7.37 (dd, $J=7.96$, 2.65 Гц, $1H$), 7.41 (dd, $J=8.84$, 5.81 Гц, $1H$).

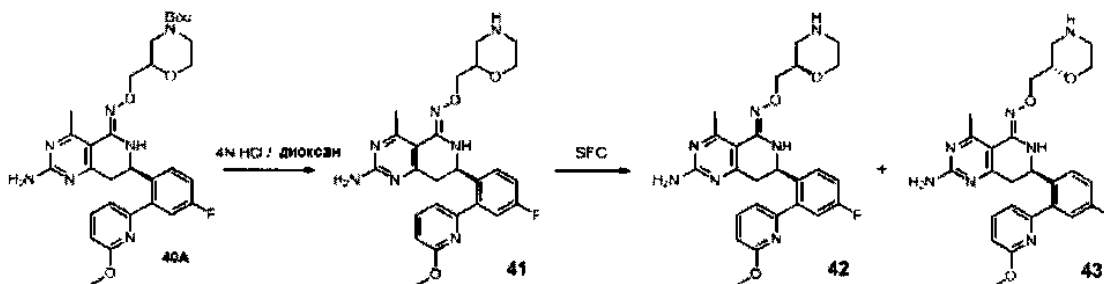
ESI-МС: m/z 468.1 ($M+H$)⁺.

Реакцию 39A с 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазабороканом (39B) проводили, следуя процедуре, аналогичной примеру 31, этапы от 31H до 31J, с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил оксима (40, 37.3% выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ ppm 2.55 (s, 3H), 2.85 (dd, $J=16.17$, 7.07 Гц, $1H$), 3.10 (dd, $J=16.29$, 5.18 Гц, $1H$), 3.24-3.35 (m, $1H$), 3.45 (dd, $J=10.99$, 2.65 Гц, $1H$), 3.50-3.59 (m, $1H$), 3.59-3.74 (m, $2H$), 3.76-3.84 (m, $3H$), 3.86 (s, 3H), 3.89-3.96 (m, $1H$), 5.10 (m, $1H$), 6.54 (br. s., $1H$), 6.85 (d, $J=8.34$ Гц, $1H$), 7.19 (d, $J=7.07$ Гц, $1H$), 7.23-7.31 (m, $2H$), 7.45 (dd, $J=8.46$, 5.94 Гц, $1H$), 7.78-7.92 (m, $1H$).

ESI-МС: m/z 495.3 ($M+H$)⁺.

Пример 40. Получение (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-морфолин-2-илметил оксима и изомеров (соединения 41-43)



40A получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 39, с тем отличием, что использовали трет-бутил 2-(аминооксиметил)морфолин-4-карбоксилат. Окончательное удаление трет-бутоксикарбонильной защиты проводили путем обработки 40A (6 мг, 0.01 ммоль) 4N HCl в диоксане (0.7 мл). Реакционную смесь сушили под вакуумом с получением (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-морфолин-2-илметил оксима в форме рыжеватого-коричневого масла (41, количественный выход).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.84 (s, 3H), 3.00-3.10 (m, $1H$), 3.11-3.21 (m, $1H$), 3.34-3.50 (m, $2H$), 3.53-3.77 (m, $2H$), 3.81-3.92 (m, $1H$), 4.06 (s, 3H), 4.09-4.13 (m, $2H$), 4.13-4.21 (m, $2H$), 4.95-4.99 (m, $1H$), 7.11-7.18 (m, $1H$), 7.23-7.29 (m, $1H$), 7.29-7.38 (m, $2H$), 7.67-7.76 (m, $1H$), 8.04-8.12 (m, $1H$).

[$M+H$]⁺ расч. для C₂₅H₂₈FN₇O₃, 494; эксп., 494.

Разделение методом СЖХ двух энантимеров выхода 41.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(R)-морфолин-2-илметил оксим (42).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.82 (s, 3H), 2.95-3.28 (m, 4H), 3.33-3.45 (m, 2H), 3.83 (td, $J=12.57$, 2.40 Гц, $1H$), 3.92 (s, 3H), 4.02-4.21 (m, 4H), 5.07 (dd, $J=8.84$, 4.29 Гц, $1H$), 6.81 (d, $J=8.34$ Гц, $1H$), 7.13 (d, $J=7.33$ Гц, $1H$), 7.17-7.29 (m, 2H), 7.63 (dd, $J=8.59$, 5.56 Гц, $1H$), 7.78 (t, $J=7.83$ Гц, $1H$).

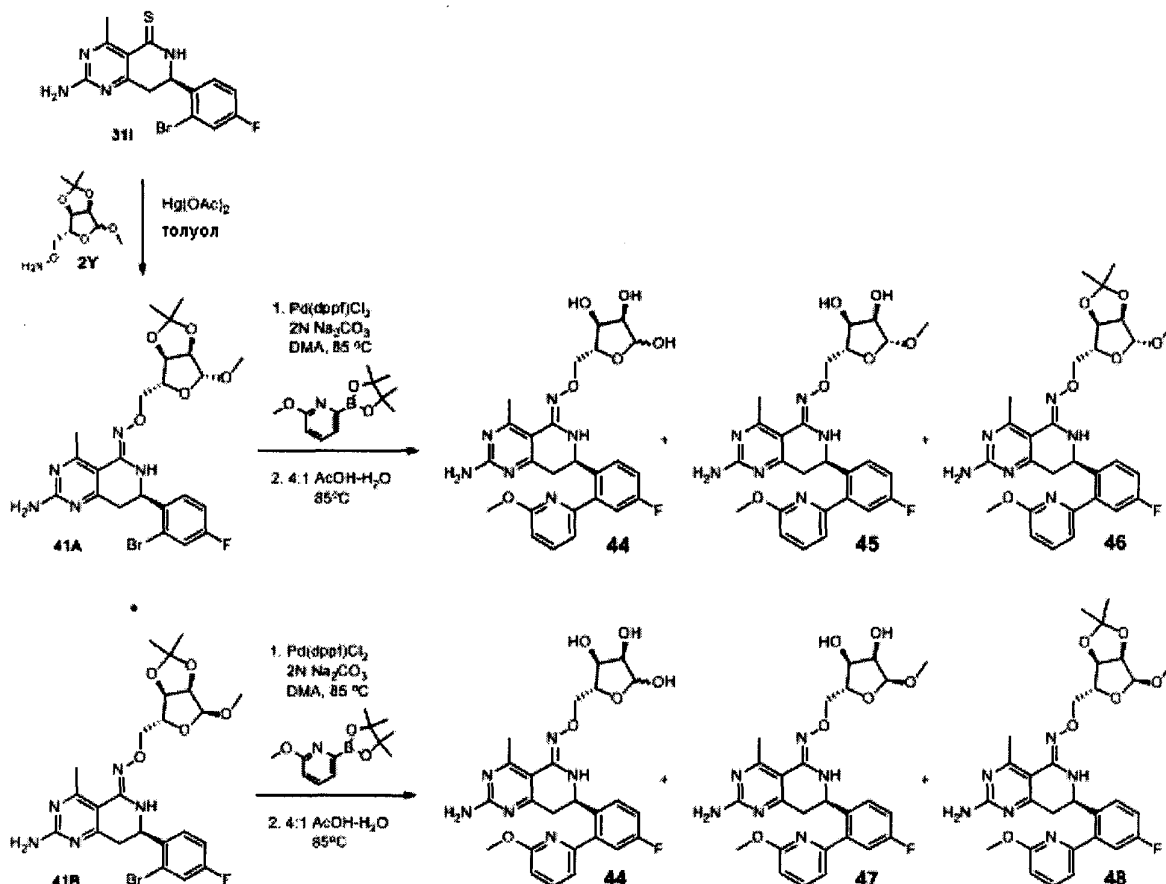
[$M+H$] расч. для C₂₅H₂₈FN₇O₃, 494; эксп., 494.

(R,Z)-2-Амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-морфолин-2-илметил оксим (43).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.82 (s, 3H), 2.95-3.28 (m, 4H), 3.33-3.45 (m, 2H), 3.83 (td, $J=12.57$, 2.40 Гц, $1H$), 3.92 (s, 3H), 4.02-4.21 (m, 4H), 5.07 (dd, $J=8.84$, 4.29 Гц, $1H$), 6.81 (d, $J=8.34$ Гц, $1H$), 7.13 (d, $J=7.33$ Гц, $1H$), 7.17-7.29 (m, 2H), 7.63 (dd, $J=8.59$, 5.56 Гц, $1H$), 7.78 (t, $J=7.83$ Гц, $1H$).

[$M+H$] расч. для C₂₅H₂₈FN₇O₃, 494; эксп., 494.

Пример 41. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4R)-3,4,5-тригидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксима (44) и его аналога (соединение 44) и стереоизомеров (соединения 45, 46, 47 и 48)



Реакцию между 31I и O-(((3aR,4R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4-d][1,3]диоксол-4-ил)метил)гидроксиламином (2Y) проводили, следуя процедуре, аналогичной примеру 39. В результате получали рацемическую смесь (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(((3aR,4R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4-d][1,3]диоксол-4-ил)метил) оксима. Разделение методом препаративной ЖХ/МС (40-85% NH_4OAc - H_2O - AcCN) давала диастереомеры 41A и 41B.

Диастереомеры, 41A и 41B, каждый в отдельности приводили в реакцию с 2-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридином также согласно процедуре, описанной в примере 39. Удаление защиты и разделение методом препаративной ЖХ/МС (40-85% NH_4OAc - H_2O - AcCN) каждой из реакционной смеси давали гидроксильный аналог и два стереоизомера.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4R)-3,4,5-тригидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим (44).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.35 (s, 3H), 2.67-2.72 (m, 1H), 2.78-2.90 (m, 1H), 3.29 (dt, $J=11.94, 2.87$ Гц, 1H), 3.39-3.48 (m, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.65-3.77 (m, 1H), 3.82-3.90 (m, 1H), 3.91-4.01 (m, 1H), 4.57-4.69 (m, 1H), 4.83-4.97 (m, 1H), 6.37-6.50 (m, 1H), 6.75 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 6.79-6.91 (m, 2H), 7.32-7.44 (m, 2H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FN}_6\text{O}_6$, 527.20; эксп., 527.20.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4R,5R)-3,4-дигидрокси-5-метокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим (45).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.44 (s, 3H), 2.72-2.84 (m, 1H), 2.88-2.97 (m, 1H), 3.05 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.70 (d, $J=2.27$ Гц, 1H), 3.81-3.94 (m, 2H), 3.95-4.03 (m, 2H), 4.56 (s, 1H), 4.69 (dd, $J=9.98, 3.16$ Гц, 1H), 6.53 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 6.82 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 6.88-7.00 (m, 2H), 7.39-7.52 (m, 2H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_6\text{O}_6$, 541.21; эксп., 541.20.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(((3aR,4R,6R,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4-d][1,3]диоксол-4-ил)метил) оксим (46).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.10 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.79-2.88 (m, 1H), 2.92-3.01 (m, 1H), 3.08 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.78-3.91 (m, 2H), 4.32 (t, $J=6.44$ Гц, 1H), 4.37 (d, $J=5.81$ Гц, 1H),

4.57 (d, $J=6.06$ Гц, 1H), 4.72 (dd, $J=10.74, 3.66$ Гц, 1H), 4.75 (s, 1H), 6.56 (d, $J=9.85$ Гц, 1H), 6.84 (d, $J=6.32$ Гц, 1H), 6.90-7.04 (m, 2H), 7.44-7.54 (m, 2H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{29}H_{34}FN_6O_6$, 581.24; эксп., 581.30.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4R,5S)-3,4-дигидрокси-5-метокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим (47).

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.51 (s, 3H), 2.81-2.91 (m, 1H), 2.96-3.04 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.77 (d, $J=4.80$ Гц, 1H), 3.92-4.00 (m, 2H), 4.01-4.07 (m, 2H), 4.63 (s, 1H), 4.74 (dd, $J=10.36, 4.04$ Гц, 1H), 6.59 (d, $J=8.08$ Гц, 1H), 6.88 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 6.94-7.07 (m, 2H), 7.52 (t, $J=7.83$ Гц, 2H).

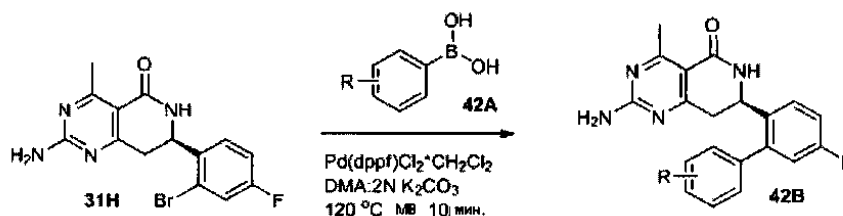
МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{26}H_{30}FN_6O_6$, 541.21; эксп., 541.20.

(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((3aR,4R,6S,6aR)-6-метокси-2,2-диметилтетрагидрофурано[3,4-d][1,3]диоксол-4-ил)метил оксим (48).

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.04 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.72-2.81 (m, 1H), 2.86-2.94 (m, 1H), 3.02 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.64-3.79 (m, 3H), 4.26 (t, $J=6.69$ Гц, 1H), 4.51 (d, $J=4.55$ Гц, 1H), 4.62-4.70 (m, 2H), 6.50 (d, $J=8.59$ Гц, 1H), 6.79 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 6.85-6.95 (m, 2H), 7.39-7.47 (m, 2H).

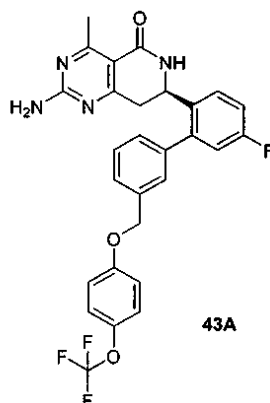
МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{29}H_{34}FN_6O_6$, 581.24; эксп., 581.30.

Пример 42. Общая процедура для реакции сочетания Сузуки



В сосуд на 5 мл для микроволновой обработки помещали (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он (31H (пример 31), 100 мг, 0.28 ммоль, 1 экв), боронную кислоту 42A (4 экв) и $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (93 мг, 0.11 ммоль, 0.4 экв). Соединения растворяли в смеси DMA (3 мл) и 2 М K_2CO_3 (1 мл, 8 экв) и сосуд запечатывали. Реакционную смесь нагревали до $120^\circ C$ в течение 10 мин в микроволновый реактор. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали H_2O ($\times 3$) и насыщенным солевым раствором, затем сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и испаряли при пониженном давлении с получением сырого продукта. Сырой материал очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением чистой соли ТФА продукта 42B в форме беловатого твердого вещества.

Пример 43. Получение (R)-2-амино-7-(5-фтор-3'-((4-(трифторметокси)фенокси)метил)бифенил-2-ил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-она (43A)

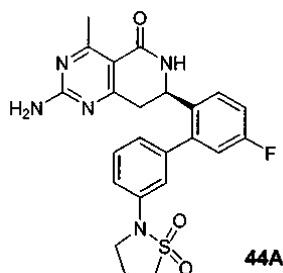


Соединение 43A получали способом, описанным в примере 42, с использованием 3'-((4-(трифторметокси)фенокси)метил)фенилбороновой кислоты.

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.79 (s, 3H), 2.86-2.93 (m, 1H), 3.08 (dd, $J=16.80, 11.75$ Гц, 1H), 4.83 (dd, $J=11.49, 4.42$ Гц, 1H), 5.07 (s, 2H), 6.91-6.97 (m, 3H), 6.98-7.05 (m, 2H), 7.17-7.24 (m, 2H), 7.45-7.48 (m, 1H), 7.51-7.62 (m, 2H), 7.66-7.75 (m, 1H).

ESI-МС: m/z 539 (MH^+).

Пример 44. Получение (R)-2-амино-7-(5-фтор-2'-(3-(1,1-диоксидоизотиазолидин-2-ил)метил)бифенил-2-ил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-она (41A)

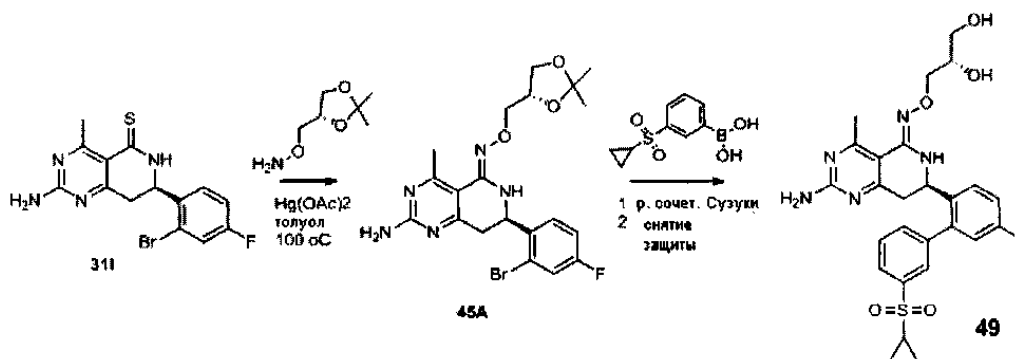


Указанное в названии соединение 44A получали способом, описанным в примере 42, с использованием 3-(1,1-диоксидоизотиазолидин-2-ил)фенилбороновой кислоты.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.50 (quin, J=6.88 Гц, 2H), 2.80 (s, 3H), 3.00 (dd, J=17.05, 4.17 Гц, 1H), 3.23-3.29 (m, 1H), 3.43 (t, J=7.45 Гц, 2H), 3.80 (t, J=6.44 Гц, 2H), 4.90-4.93 (m, 1H), 7.06 (dd, J=9.22, 2.40 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.58 Гц, 1H), 7.19-7.28 (m, 3H), 7.45 (t, J=7.83 Гц, 1H), 7.69 (dd, J=8.84, 5.56 Гц, 1H).

ESI-МС: m/z 468 (MH⁺).

Пример 45. (R,Z)-2-амино-7-(3'-(циклопропилсульфонил)-5-фторбифенил-2-ил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-2,3-дигидроксипропил оксим (соединение 49)

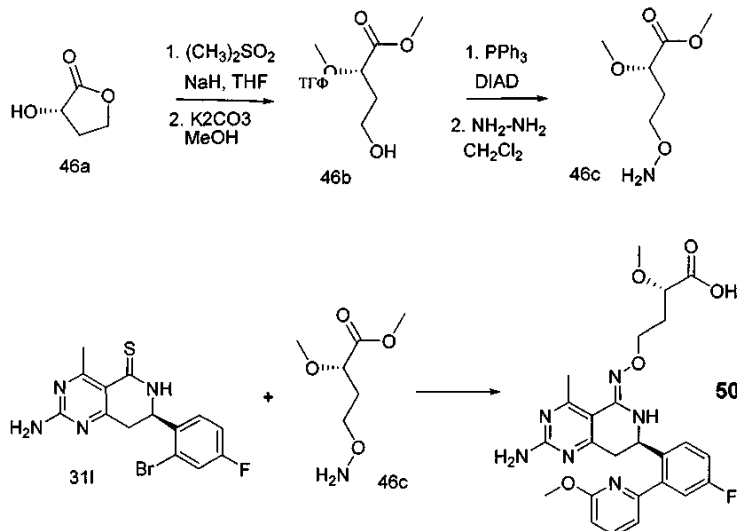


Соединение 45A синтезировали, следуя процедуре из примера 39, с использованием (S)-O-((2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)гидроксиламина. 3-(Циклопропилсульфонил)фенилбороновую кислоту затем приводили в реакцию с 45A согласно реакции сочетания Сузуки, реакции из примера 42 и на выходе получали соединение 49, упомянутое в названии.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 0.76-0.88 (m, 1H), 0.99-1.11 (m, 1H), 2.29-2.38 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.60 (dd, J=16.55, 3.66 Гц, 1H), 2.81 (dd, J=16.42, 10.86 Гц, 1H), 3.28-3.43 (m, 1H), 3.70-3.76 (m, 1H), 3.77-3.85 (m, 1H), 3.85-3.92 (m, 1H), 4.21 (dd, J=10.86, 3.28 Гц, 1H), 6.78 (dd, J=9.09, 2.53 Гц, 1H), 6.98 (td, J=8.27, 2.40 Гц, 1H), 7.37-7.48 (m, 3H), 7.62 (s, 1H), 7.68 (dt, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₆H₂₉FN₅O₅S, 542.18; эксп., 542.20.

Пример 46. (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-метоксибутановая кислота (соединение 50)



А. Синтез (S)-метил 4-(аминоокси)-2-метоксибутаноата.

К суспензии NaH (60% в минеральном масле, 552 мг, 12.0 ммоль) в ТГФ (5 мл) добавляли раствор (S)-3-гидроксидигидрофуран-2(3H)-он (46а, 1.02 г, 10.0 ммоль) в ТГФ (5 мл) медленно, по капле при 0°C в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин и добавляли диметилсульфат (1.4 мл, 15.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и анализ методом ТСХ показал, что реакция завершена. Холодную воду (25 мл) добавляли к реакционной смеси и экстрагировали этилацетат. Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и фильтровали. Концентрировали с получением (S)-3-гидроксидигидрофуран-2(3H)-она (46а) в форме желтого масла, которое растворяли в MeOH. Каталитическое количество K₂CO₃ (50 мг) добавляли при 0°C и реакционную смесь помешивали в течение 1 ч. Анализ методом ТСХ показал, что реакция завершена. Холодную воду (25 мл) добавляли к реакционной смеси и экстрагировали этилацетат. Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и фильтровали. Концентрировали с получением (S)-метил 4-гидрокси-2-метоксибутаноата (46b, 1.5 г, 99%), в форме желтого масла.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.07-2.28 (m, 1H), 2.36-2.58 (m, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.85-4.07 (m, 1H), 4.29-4.42 (m, 2H).

К раствору (S)-метил 4-гидрокси-2-метоксибутаноата (46b, 1.48 г, 10.0 ммоль) в CH₂Cl₂ (25.0 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (1.63 г, 10.0 ммоль) и трифенилфосфин (3.93 г, 15.0 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и диизопропил азодикарбоксилат (2.95 мл, 15.0 ммоль) медленно по капле добавляли в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К реакционной смеси добавляли H₂O (100 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂. Органические фазы промывали солевым раствором. Сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc-гексан) с получением (S)-метил 4-(1,3-диоксоизоиндолин-2-илокси)-2-метоксибутаноата (46с, 1.25 г, 42%) в виде светло-желтого масла.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.98-2.10 (m, 1H), 2.23-2.37 (m, 1H), 3.51 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 4.24 (dd, J=9.47, 3.66 Гц, 1H), 4.31-4.40 (m, 2H), 7.74-7.82 (m, 2H), 7.81-7.90 (m, 2H).

К раствору (S)-метил 4-(1,3-диоксоизоиндолин-2-илокси)-2-метоксибутаноата (1.2 г, 4.0 ммоль) в CH₂Cl₂ (5.0 мл) добавляли гидразин гидрат (0.98 мл, 10.0 ммоль) капельно при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (70% EtOAc-гексан) с получением (S)-метил 4-(аминоокси)-2-метоксибутаноата (46с, 0.552 г, 84%) в виде бледно-желтого масла.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.75-2.23 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 3.65-3.86 (m, 2H), 4.96 (dt, J=12.57, 6.22 Гц, 1H).

В. Получение соединения 50.

Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (31I, 146 мг, 0.4 ммоль), (S)-метил 4-(аминоокси)-2-метоксибутаноата (46с, 260 мг, 1.6 ммоль), Hg(OAc)₂ (257 мг, 0.8 ммоль) и толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-метоксибутаноата (23 мг, 12%) в форме беловатого твердого вещества.

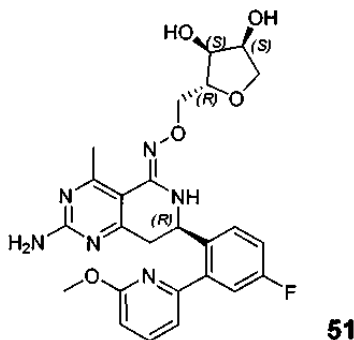
МС (ES) [M+H] расч. для C₂₀H₂₄BrFN₅O₄, 496.09; эксп., 496.20.

Смесь полученного вещества (23 мг, 0.05 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (74.5 мг, 0.25 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (4.0 мг, 0.005 ммоль), 2 N водного Na₂CO₃ (0.25 мл, 0.5 ммоль) и DMA (2 мл), дегазировали N₂ и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Во время реакции метиловый эфир смыливали на месте. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-метоксибутановой кислоты (4.6 мг, 20%) в форме беловатого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.91-2.03 (m, 1H), 2.10-2.24 (m, 1H), 2.74 (s, 3H), 2.84-2.98 (m, 1H), 3.00-3.10 (m, 1H), 3.31 (br. s., 3H), 3.75-3.79 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 4.02-4.16 (m, 2H), 4.82 (ddd, J=10.23, 2.91, 2.78 Гц, 1H), 6.69 (dd, J=8.34, 2.02 Гц, 1H), 6.95 (dd, J=7.20, 1.89 Гц, 1H), 7.06 (ddd, J=9.16, 2.46, 2.27 Гц, 1H), 7.09-7.16 (m, 1H), 7.60 (dddd, J=15.73, 8.15, 7.96, 2.27 Гц, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₅H₂₈FN₆O₅, 511.20; эксп., 511.40.

Пример 47. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4S)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим (соединение 51)



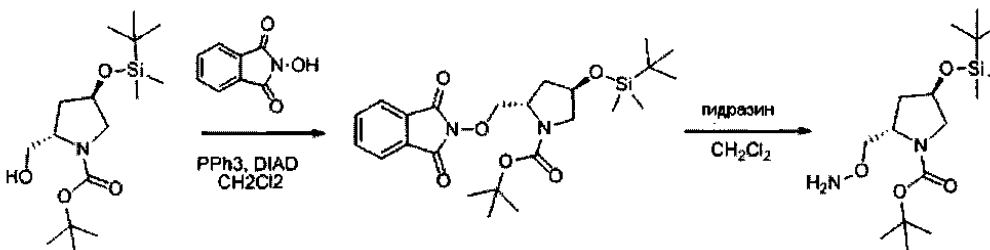
51

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3S,4R)-3,4-дигидрокси-5-метокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксима (10.5 мг, 0.02 ммоль) в CH_2Cl_2 (1 мл) добавляли Et_3SiH (16 мкл, 0.05 ммоль) и $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (8.0 мкл, 0.05 ммоль) при 0°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и наливали в толченый лед. Получившуюся суспензию экстрагировали CH_2Cl_2 и промывали солевым раствором. Полученное в результате реакции вещество после очистки методом препаративной ЖХ/МС позволяет получить указанное в названии соединение (3.0 мг, 30%) в форме светло-коричневого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.50 (s, 3H), 2.77 (dd, $J=16.04$, 6.95 Гц, 1H), 3.00 (dd, $J=16.04$, 5.18 Гц, 1H), 3.15-3.26 (m, 2H), 3.35-3.42 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.85-3.94 (m, 2H), 4.38-4.41 (m, 1H), 4.93-5.13 (m, 1H), 6.82 (d, $J=9.09$ Гц, 1H), 7.16 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 7.21-7.30 (m, 2H), 7.45 (dd, $J=8.46$, 5.94 Гц, 1H), 7.86 (dd, $J=8.34$, 7.33 Гц, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FN}_6\text{O}_5$, 511.51; эксп., 511.20.

Пример 48. (2S,4R)-трет-бутил 2-(аминооксиметил)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)пирролидин-1-карбоксилат



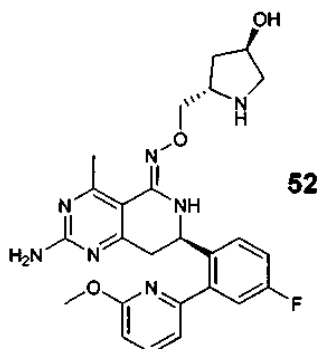
К раствору (2S,4R)-трет-бутил 4-(трет-бутилдиметилсилилокси)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилата (2.0 г, 6.0 ммоль) в CH_2Cl_2 (15.0 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (978 мг, 6.0 ммоль) и трифенилфосфин (2.36 г, 9.0 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и диизопропил азодикарбоксилат (1.78 мл, 9.0 ммоль) медленно по капле добавляли в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К реакционной смеси добавляли H_2O (100 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 . Органические фазы промывали солевым раствором. Сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc -гексан) с получением (2S,4R)-трет-бутил 4-(трет-бутилдиметилсилилокси)-2-((1,3-диоксоизоиндолин-2-илокси)метил)пирролидин-1-карбоксилата в виде светло-желтого масла.

Получившуюся маслянистое соединение растворяли в CH_2Cl_2 (250 мл) и охлаждали до 0°C . Добавляли капельно гидразин гидрат (1.2 мл, 12.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (70% EtOAc -гексан) с получением 1.2 г (60%, в два этапа) (2S,4R)-трет-бутил 2-(аминооксиметил)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)пирролидин-1-карбоксилата в виде бледно-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 0.24 (s, 3H), 0.26 (s, 3H), 0.87 (s, 9H), 1.26 (s, 9H), 1.67-1.76 (m, 1H), 1.81-1.94 (m, 1H), 3.18 (dd, $J=12.25$, 4.93 Гц, 1H), 3.22-3.31 (m, 1H), 3.70-3.81 (m, 1H), 3.88-3.96 (m, 1H), 3.98-4.09 (m, 1H), 4.12-4.21 (m, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$, 347.23; эксп., 347.22.

Пример 49. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-ил)метил оксим (соединение 52)



Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (183 мг, 0.5 ммоль), (2S,4R)-трет-бутил 2-(аминооксиметил)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)пирролидин-1-карбоксилата (692 мг, 2.0 ммоль), Hg(OAc)₂ (320 мг, 1.0 ммоль) и толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч.

Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (2S,4R)-трет-бутил 2-(((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)пирролидин-1-карбоксилата (200 мг, 50%) в форме беловатого твердого вещества.

МС (ES) [M+H] расч. для C₃₀H₄₅BrFN₆O₄Si, 679.24; эксп., 679.20.

Смесь полученного вещества (200 мг, 0.3 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (447 мг, 1.5 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (25 мг, 0.03 ммоль), 2 N Na₂CO₃ (1.5 мл, 3.0 ммоль) и DMA (2 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (2S,4R)-трет-бутил 2-(((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)-4-гидроксипирролидин-1-карбоксилата (94 мг, 53%) в форме вязкого масла.

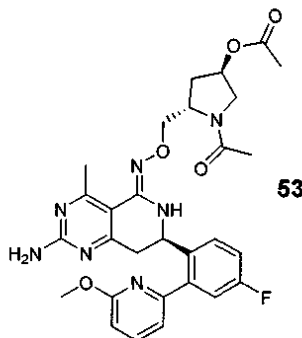
МС (ES) [M+H] расч. для C₃₀H₃₇FN₇O₅, 594.28; эксп., 594.30.

Получившуюся маслянистую смесь растворяли в диоксане (1.0 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли 4N HCl в диоксане (0.1 мл, 0.375 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Получившееся твердое вещество отфильтровывали и сушили с получением соединения 52 в форме соли HCl (56 мг, 76%) в виде белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.64 (ddd, J=13.64, 8.08, 5.56 Гц, 1H), 1.88 (dd, J=13.64, 7.07 Гц, 1H), 2.65 (s, 3H), 2.90 (d, J=11.62 Гц, 1H), 3.00-3.09 (m, 2H), 3.13-3.27 (m, 1H), 3.68-3.82 (m, 1H), 3.84-3.94 (m, 4H), 3.95-4.02 (m, 1H), 4.40 (t, J=4.67 Гц, 1H), 4.87 (dd, J=10.48, 3.92 Гц, 1H), 5.18 (s, 2H), 5.72 (s, 1H), 6.73 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.00 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.07-7.24 (m, 2H), 7.57-7.77 (m, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₅H₂₉FN₇O₃, 494.22; эксп., 494.20.

Пример 50. (3R,5S)-1-ацетил-5-(((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)пирролидин-3-ил ацетат (соединение 53)



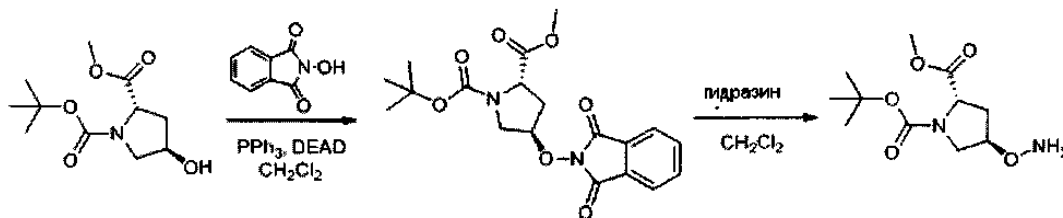
К раствору (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-ил)метил оксима (20 мг, 0.05 ммоль) в CH₂Cl₂ (1 мл) содержащему каталитическое количество ДМАП, добавляли Et₃N (20.86 мкл, 0.15 ммоль) и ацетил хлорид (10.0 мкл, 0.1 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Гасили насыщенным раствором NH₄Cl и экстрагировали CH₂Cl₂. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили над безводным

Na₂SO₄. Получившийся остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением соединения, упомянутого в названии (5 мг, 25%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.00 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.09-2.23 (m, 1H), 2.29-2.41 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.95-3.11 (m, 1H), 3.15-3.29 (m, 1H), 3.66 (dd, J=11.37, 5.56 Гц, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.04 (dd, J=11.87, 5.31 Гц, 1H), 4.13-4.30 (m, 1H), 4.32-4.49 (m, 1H), 4.77-4.95 (m, 1H), 5.06-5.16 (m, 1H), 5.20-5.32 (m, 1H), 6.74 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.01 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.10-7.22 (m, 2H), 7.57-7.74 (m, 2H).

МС (ES) [M+H]⁺ расч. для C₂₉H₃₃FN₇O₅, 578.60; эксп., 578.30.

Пример 51. (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-(аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилат



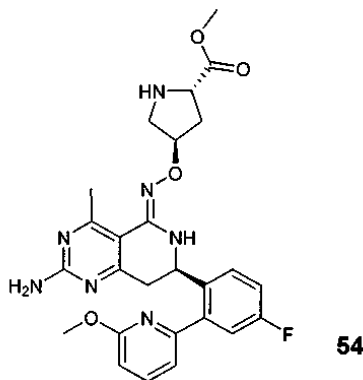
К раствору (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-гидрокси-пирролидин-1,2-дикарбоксилата (4.9 г, 20.0 ммоль) в CH₂Cl₂ (50.0 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (3.26 г, 20.0 ммоль) и трифенилфосфин (7.86 г, 30.0 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и диизопропил азодикарбоксилат (5.90 мл, 30.0 ммоль) медленно по капле добавляли в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Выделение продукта реакции и очистка методом, описанным в примере 2А, этап 1 давали (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-(1,3-диоксоизоиндолин-2-илокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилат в форме вязкого масла.

Полученное маслянистое соединение растворяли в CH₂Cl₂ (100 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли гидразин гидрат (4.0 мл, 40.0 ммоль) капельно. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Выделение продукта реакции и очистка методом, описанным в примере 2А, этап 2 давали (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-(аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата в виде бледно-желтого масла (2.8 г, 53%, выход в два этапа).

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.42 (s, 9H), 2.13-2.29 (m, 1H), 2.34-2.48 (m, 1H), 3.48-3.68 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.23-4.30 (m, 1H), 4.30-4.49 (m, 1H).

МС (ES) [M+H]⁺ расч. для C₁₁H₂₁N₂O₅, 261.14; эксп., 261.22.

Пример 52. (2S,4R)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)пирролидин-2-карбоксилат (соединение 54)



Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (150 мг, 0.4 ммоль), (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-(аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (416 мг, 1.6 ммоль), Hg(OAc)₂ (256 мг, 0.8 ммоль) и толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (172 мг, 570%) в форме белого твердого вещества.

МС (ES) [M+H]⁺ расч. для C₂₅H₃₁BrFN₆O₅, 593.14; эксп., 593.10.

Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (150 мг, 0.4 ммоль), (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-(аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (416 мг, 1.6 ммоль), Hg(OAc)₂ (256 мг, 0.8 ммоль) и толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (2S,4R)-1-трет-бутил 2-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (172 мг, 570%) в форме белого твердого вещества.

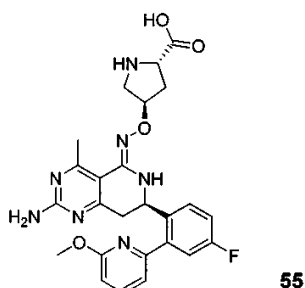
МС (ES) [M+H] расч. для $C_{25}H_{31}BrFN_6O_5$, 593.14; эксп., 593.10.

Полученное маслянистое соединение растворяли в диоксане (1.0 мл) и охлаждали до 0°C. 4N HCl в диоксане (62.0 мкл, 0.25 ммоль) добавляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Получившееся твердое вещество отфильтровывали и сушили с получением соединения 54 в форме соли HCl (45.0 мг, 82%) в виде белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.32-2.46 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.87 (dd, J=16.80, 10.74 Гц, 2H), 3.12 (d, J=4.04 Гц, 1H), 3.30 (dd, J=12.63, 3.54 Гц, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.38 (dd, J=9.98, 2.65 Гц, 1H), 4.67 (t, J=3.79 Гц, 1H), 4.73 (dd, J=10.23, 3.66 Гц, 1H), 6.60 (d, J=8.34 Гц, 1H), 6.87 (d, J=7.07 Гц, 1H), 6.97 (dd, J=9.22, 2.65 Гц, 1H), 7.03 (td, J=8.46, 2.02 Гц, 1H), 7.46 (dd, J=9.09, 4.80 Гц, 1H), 7.53 (t, J=7.71 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{26}H_{29}FN_7O_4$, 522.542; эксп., 522.24

Пример 53. (2S,4R)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)пирролидин-2-карбоксильная кислота (соединение 55)

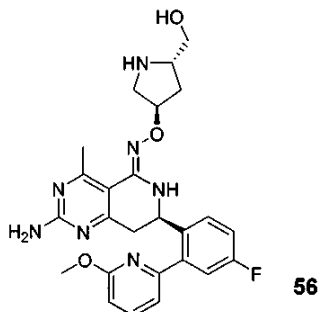


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 52.

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 2.23-2.36 (m, 1H), 2.39-2.49 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 3.14-3.26 (m, 2H), 3.43-3.54 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 4.14-4.26 (m, 1H), 4.53 (dd, J=9.09, 3.79 Гц, 1H), 4.60 (d, J=2.27 Гц, 1H), 6.82-6.91 (m, 1H), 6.93-7.09 (m, 2H), 7.20-7.32 (m, 1H), 7.44 (dd, J=8.84, 5.31 Гц, 1H), 7.68-7.90 (m, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{25}H_{27}FN_7O_4$, 507.51; эксп., 508.20.

Пример 54. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(3R,5S)-5-(гидроксиметил)пирролидин-3-ил оксим (соединение 56)

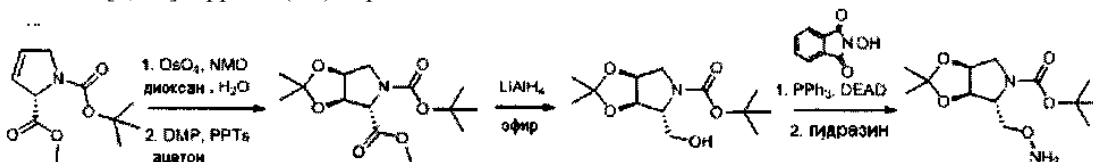


К раствору (2S,4R)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)пирролидин-2-карбоксилата (25.0 мг, 0.04 ммоль) в сухом эфире (1 мл) добавляли LiAlH_4 (0.1 мл, 0.01 ммоль, 1 M раствор в эфире) при 0°C в атмосфере N_2 . Перемешивали в течение 1 ч и гасили раствором 1 N NaOH (0.1 мл). Добавляли безводный MgSO_4 и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением указанного в названии соединения (6.0 мг, 32%) в форме белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.67-1.95 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.58 (d, J=3.03 Гц, 1H), 2.71 (d, J=3.28 Гц, 1H), 2.94-3.00 (m, 2H), 3.13-3.19 (m, 1H), 3.22-3.39 (m, 2H), 3.43 (dd, J=11.12, 6.32 Гц, 1H), 3.58 (s, 3H), 4.65-4.73 (m, 1H), 6.47 (dd, J=8.46, 2.91 Гц, 1H), 6.76 (dd, J=7.20, 2.65 Гц, 1H), 6.84 (ddd, J=9.73, 2.78, 2.65 Гц, 1H), 6.87-6.93 (m, 1H), 7.29-7.36 (m, 1H), 7.41 (t, J=7.83 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{25}H_{29}FN_7O_3$, 494.53; эксп., 494.20.

Пример 55. (3aR,4R,6aS)-трет-бутил 4-(аминооксиметил)-2,2-диметилдигидро-3aH-[1,3]диоксолан-5(4H)-карбоксилат



К раствору (S)-1-трет-бутил 2-метил 1Н-пиррол-1,2-(2Н,5Н)-дикарбоксилата (1.0 г, 4.5 ммоль) в диоксане-Н₂О (4:1) добавляли НМО (580 мг, 4.95 ммоль) и OsO₄ (114 мг, 0.45 ммоль, 2.5 вес.% в Н₂О) и реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре, гасили 10% водным раствором Na₂S₂O₃ и экстрагировали этилацетат. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором и сушили над безводным Na₂SO₄. Получившийся остаток растворяли в ацетоне (5 мл), добавляли каталитическое количество ППТС и диметоксипропан (1.5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и разбавляли этилацетатом, промывали насыщенным NaHCO₃ и солевым раствором. Сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в эфире (5.0 мл) и добавляли LiAlH₄ (3.0 мл, 3.0 ммоль, 1 М раствор в эфире) при 0°C в атмосфере N₂. Перемешивали в течение 1 ч и гасили 1 N раствором NaOH (0.1 мл). Добавляли безводный MgSO₄ и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали методом флэш-хроматографии (5% MeOH-CH₂Cl₂) с получением (3aR,4R,6aS)-трет-бутил 4-(гидроксиметил)-2,2-диметилдигидро-3aH-[1,3]диоксоло[4,5-с]пиррол-5(4H)-карбоксилата (550 мг, 45%, выход в три этапа).

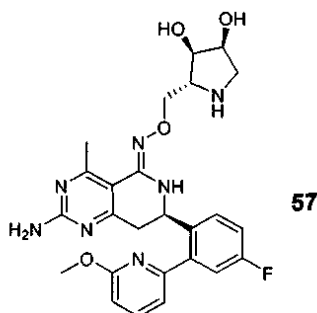
¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.32 (s, 6H), 1.47 (s, 9H), 3.33-3.38 (m, 1H), 3.50 (dd, J=13.14, 6.06 Гц, 2H), 4.54 (d, J=3.79 Гц, 1H), 4.59-4.61 (m, 1H), 4.66-4.73 (m, 2H).

Полученное маслянистое соединение (550 мг, 2.0 ммоль) подвергали реакции сочетания Мицунобу, после чего удаляли фталимидную защиту, следуя процедуре, аналогичной описанной в примере 2, с получением (3aR,4R,6aS)-трет-бутил 4-(аминооксиметил)-2,2-диметилдигидро-3aH-[1,3]диоксоло[4,5-с]пиррол-5(4H)-карбоксилат (340 мг, 59%) в форме вязкого масла.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.31 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.47 (s, 9H), 3.26-3.47 (m, 1H), 3.59-3.80 (m, 2H), 4.07-4.38 (m, 1H), 4.51-4.67 (m, 1H), 5.41-5.71 (m, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₁₃H₂₅N₂O₅, 289.17; эксп., 289.20.

Пример 56. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-((2R,3R,4S)-3,4-дигидрокси-пирролидин-2-ил)метил оксим (соединение 57)

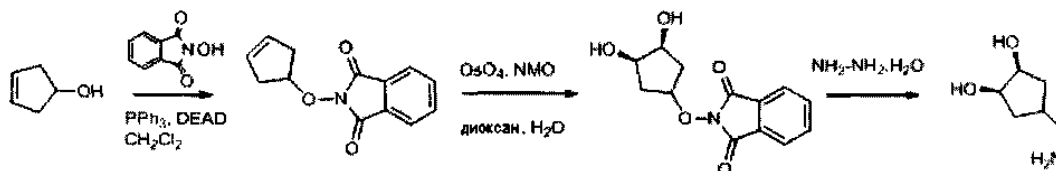


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, аналогичной описанной в примере #, с использованием (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (150 мг, 0.4 ммоль) и (3aR,4R,6aS)-трет-бутил 4-(аминооксиметил)-2,2-диметилдигидро-3aH-[1,3]диоксоло[4,5-с]пиррол-5(4H)-карбоксилата (340 мг, 1.2 ммоль). Реакция сочетания Сузуки и последующее удаление защиты позволяли получить указанное в названии соединение в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.53 (s, 3H), 2.85-2.99 (m, 1H), 3.02-3.15 (m, 1H), 3.18-3.25 (m, 1H), 3.26-3.31 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.83-3.95 (m, 1H), 3.97-4.04 (m, 1H), 4.10 (brs, 1H), 4.20-4.29 (m, 1H), 4.37 (d, J=4.80 Гц, 1H), 4.60 (brs, 1H), 4.81 (dd, J=9.47, 3.41 Гц, 1H), 6.68 (d, J=8.34 Гц, 1H), 6.95 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.01-7.14 (m, 1H), 7.48-7.57 (m, 1H), 7.61 (t, J=7.71 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₅H₂₉FN₇O₄, 510.53; эксп., 510.40.

Пример 57. (1R,2S)-4-(аминоокси)циклопентан-1,2-диол



К раствору циклопент-3-энола (840 мг, 10.0 ммоль) в CH₂Cl₂ (25.0 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (1.96 г, 12.0 ммоль) и трифенилфосфин (3.93 г, 15.0 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и медленно по капле добавляли диизопропил азодикарбоксилат (2.95 мл, 15.0 ммоль) в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К реакционной смеси добавляли H₂O (100 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂. Органические фазы промывали солевым раствором. Сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением жел-

того масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc-гексан) с получением 2-(циклопент-3-энилокси)изоиндолин-1,3-диона (740 мг, 32%) в виде светло-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 2.57-2.87 (m, 4H), 5.12 (t, $J=6.19$ Гц, 1H), 5.75 (s, 2H), 7.74 (dd, $J=5.68, 3.16$ Гц, 2H), 7.79-7.87 (m, 2H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{13}H_{12}NO_3$, 230.07; эксп., 230.20.

К раствору 2-(циклопент-3-энилокси)изоиндолин-1,3-диона (736 мг, 3.2 ммоль) в диоксане- H_2O (5.0 мл, 4:1) добавляли НМО (421 мг, 3.60 ммоль) и OsO_4 (1.0 мл мг, 0.32 ммоль, 2.5 вес.% в H_2O) и реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре. Гасили 10% водным раствором $Na_2S_2O_3$ и экстрагировали этилацетат. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4 . Фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (80% EtOAc-гексан) с получением 2-((3R,4S)-3,4-дигидроксициклопентилокси)изоиндолин-1,3-диона (650 мг, 77%) в виде светло-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.94-2.12 (m, 2H), 2.14-2.35 (m, 2H), 4.22-4.88 (m, 2H), 4.75-5.11 (m, 1H), 7.67-7.78 (m, 2H), 7.79-7.86 (m, 2H).

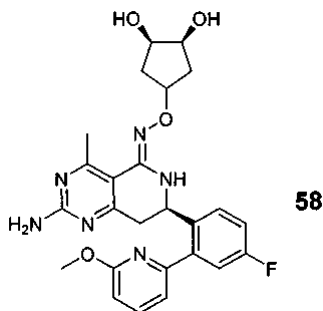
МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{13}H_{14}NO_5$, 264.08; эксп., 264.20.

Полученное маслянистое соединение (650 мг, 2.47 ммоль) растворяли в CH_2Cl_2 (5 мл) и охлаждали до 0°C . Добавляли гидразин гидрат (0.3 мл, 6.17 ммоль) капельно. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением (248 мг, 71%) (1R,2S)-4-(аминоокси)циклопентан-1,2-диола в виде бледно-желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.67-1.87 (m, 4H), 3.86-3.96 (m, 2H), 4.00-4.21 (m, 1H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_6H_{12}NO_3$, 134.07; эксп., 134.21.

Пример 58. (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он О-(3R,4S)-3,4-дигидроксициклопентил оксим (соединение 58)



Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-тиона (146 мг, 0.4 ммоль), (1R,2S)-4-(аминоокси)циклопентан-1,2-диола (212 мг, 1.6 ммоль), $Hg(OAc)_2$ (256 мг, 0.8 ммоль) и толуола (2 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (7R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он О-(3R,4S)-3,4-дигидроксициклопентил оксима (78 мг, 43%) в виде беловатого твердого вещества.

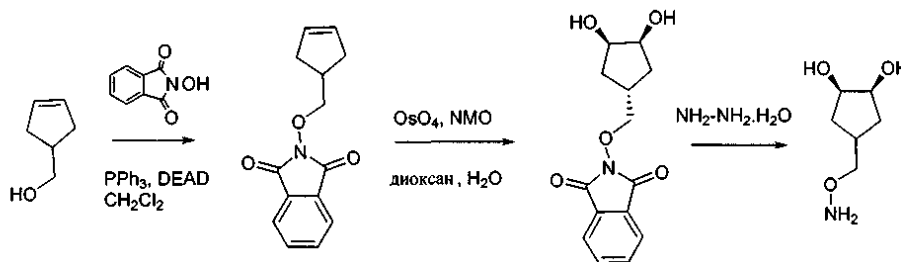
МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{19}H_{22}BrFN_5O_3$, 466.08; эксп., 467.30.

Смесь полученного соединения (75 мг, 0.16 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (238 мг, 0.8 ммоль), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (13 мг, 0.016 ммоль), 2 N водного Na_2CO_3 (0.4 мл, 0.8 ммоль) и ДМА (2 мл) дегазировали N_2 и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали с получением (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он О-(3R,4S)-3,4-дигидроксициклопентил оксима (8.4 мг, 12%) в виде белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.75-2.03 (m, 4H), 2.51 (s, 3H), 2.71-2.89 (m, 1H), 2.95-3.10 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.36 (d, $J=3.28$ Гц, 2H), 4.49-4.63 (m, 1H), 4.94 (m, 1H), 6.85 (d, $J=7.83$ Гц, 1H), 7.19 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.22-7.32 (m, 2H), 7.42-7.54 (m, 1H), 7.84 (t, $J=7.58$ Гц, 1H).

МС (ES) $[M+H]^+$ расч. для $C_{25}H_{28}FN_6O_4$, 495.52; эксп., 495.40.

Пример 59. (1R,2S)-4-(аминооксиметил)циклопентан-1,2-диол

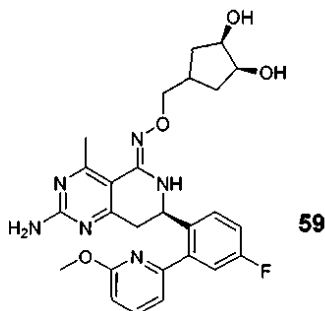


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, аналогичной описанной в примере 57.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.21-1.38 (m, 2H), 1.50-1.64 (m, 2H), 1.69-1.84 (m, 1H), 3.86-3.96 (m, 2H), 4.11 (dd, $J=7.33$, 1.52 Гц, 2H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{NO}_3$, 148.09; эксп., 148.07.

Пример 60. (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он O-((3R,4S)-3,4-дигидроксициклопентил)метил оксим (соединение 59)



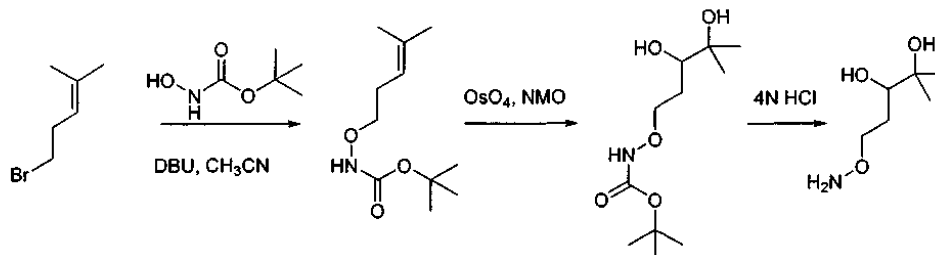
Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, аналогичной описанной в примере 58.

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.54-1.69 (m, 2H), 1.73-1.88 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.64-2.75 (m, 1H), 2.90-3.03 (m, 1H), 3.11 (dd, $J=16.29$, 4.42 Гц, 1H), 3.80-3.88 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.94-4.05 (m, 2H), 5.00 (dd, $J=8.46$, 4.42 Гц, 1H), 6.78 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.11 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.13-7.24 (m, 2H), 7.59 (dd, $J=8.08$, 5.81 Гц, 1H), 7.76 (t, $J=7.83$ Гц, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_6\text{O}_4$, 509.22; эксп., 509.20.

Пример 61. 5-(Аминоокси)-2-метилпентан-2,3-диол.

Способ А.



К раствору 5-бром-2-метилпент-2-ена (1.33 мл, 10.0 ммоль) в CH_3CN (25 мл) добавляли трет-бутил гидроксикарбамат (2.0 г, 15.0 ммоль) и ДБУ (4.5 мл, 30 ммоль) при 0°C и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Гасили насыщенным раствором NH_4Cl и экстрагировали солевой раствор. Объединяли органические фазы, промывали соевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc-гексан) с получением трет-бутил 4-метилпент-3-энилоксикарбамата (750 мг, 70%) в форме вязкого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.40 (s, 9H), 1.54 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 2.21-2.31 (m, 2H), 3.70-3.78 (m, 2H), 5.02-5.10 (m, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{NO}_3$, 216.15; эксп., 216.10.

Получившееся маслянистое соединение (750 мг, 3.5 ммоль) растворяли в диоксане - H_2O 4:1, НМО (409 мг, 3.85 ммоль) и добавляли OsO_4 (0.2 мл, 0.35 ммоль, 2.5 вес.% в H_2O). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре. Выделение продукта реакции совпадающей с процедурой, описанной в примере 58, позволяло получить трет-бутил 3,4-дигидрокси-4-метилпентилоксикарбамат (510 мг, 58%) в форме вязкого масла.

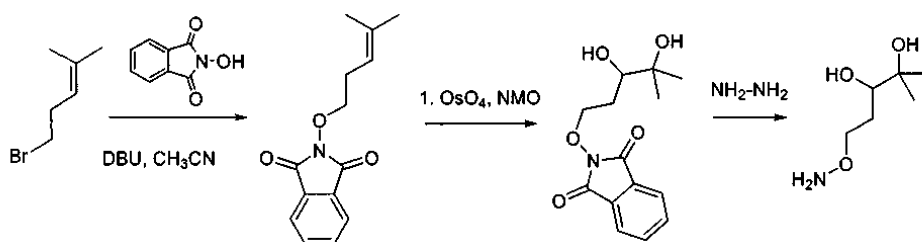
^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ 1.14 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.57-1.70 (m, 1H), 1.72-1.88 (m, 1H), 3.62-3.76 (m, 1H), 3.92-4.15 (m, 2H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{NO}_5$, 250.15; эксп., 250.20.

Получившееся маслянистое соединение (498 мг, 2.0 ммоль) растворяли в диоксане (2.0 мл) и охлаждали до 0°C добавляли 4N HCl в диоксане (1.25 мл, 5.0 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Получившееся твердое вещество отфильтровывали и сушили с получением соли HCl указанного в названии соединения (260 мг, 70%) в форме белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформа- d) δ 1.16 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.63-1.71 (m, 1H), 1.98-2.06 (m, 1H), 3.45 (d, $J=12.88$ Гц, 1H), 4.14-4.33 (m, 2H).

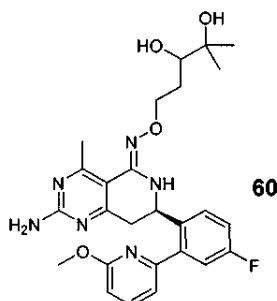
МС (ES) [M+H] расч. для $C_6H_{16}NO_3$, 150.11; эксп., 150.10.
Способ В.



В смесь 5-бром-2-метилпент-2-ена (0.66 мл, 5.0 ммоль) в CH_3CN (15 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-диона (3.33 г, 6.0 ммоль) и ДБУ (4.5 мл, 30 ммоль) нагревали при $100^\circ C$ в течение 4 ч. Выделение продукта реакции, аналогичной описанной в примере 58, давало 2-(4-метилпент-3-энилокси)изоиндолин-1,3-дион (1.14 г, 90%) в форме вязкого масла.

Получившееся соединение подвергли дигидроксилированию, после чего удаляли фталимидную защиту аналогично процедуре, описанной ранее (пример 57), в результате получали соединение, указанное в названии.

Пример 62. (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-3,4-дигидрокси-4-метилпентил оксим (соединение 60)

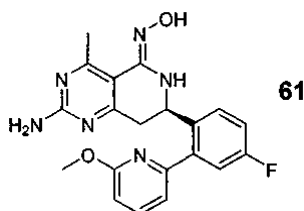


Указанное в названии соединение получали, следуя процедуре, аналогичной описанной в примере 58.

1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ ppm 0.99 (d, $J=5.31$ Гц, 3H), 1.04 (d, $J=5.31$ Гц, 3H), 1.34-1.51 (m, 1H), 1.92-2.07 (m, 1H), 2.53 (d, $J=1.77$ Гц, 3H), 2.73-2.89 (m, 1H), 3.03 (dd, $J=16.17, 5.05$ Гц, 1H), 3.16-3.30 (m, 1H), 3.86 (d, $J=3.03$ Гц, 3H), 3.95-4.06 (m, 2H), 4.93-5.13 (m, 1H), 6.86 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.19 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.22-7.34 (m, 2H), 7.41-7.56 (m, 1H), 7.78-7.91 (m, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{26}H_{32}FN_6O_4$, 511.56; эксп., 511.40.

Пример 63. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксим (соединение 61)



Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (366 мг, 1.0 ммоль), О-(трет-бутилдиметилсилил)гидроксиламина (588 мг, 4.0 ммоль), $Hg(OAc)_2$ (640 мг, 2.0 ммоль) и толуола (5 мл) нагревали при $100^\circ C$ в течение 2 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали и полученный маслянистый осадок толкли с сухим метанолом с получением бледно-желтого твердого вещества. Фильтровали и сушили с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-трет-бутилдиметилсилил оксима (384 мг, 80%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

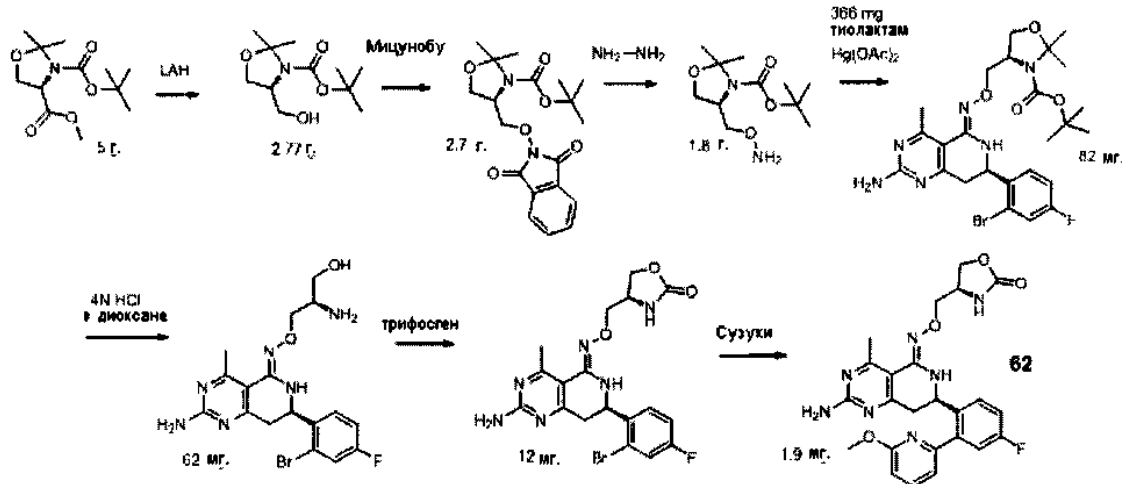
1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 0.22 (s, 3H), 0.23 (s, 3H), 0.97 (s, 9H), 2.70 (s, 3H), 2.91 (dd, $J=16.42, 8.08$ Гц, 1H), 3.19 (ddd, $J=16.36, 4.86, 1.26$ Гц, 1H), 4.99 (ddd, $J=7.77, 5.12, 2.02$ Гц, 1H), 7.05 (td, $J=8.27, 2.65$ Гц, 1H), 7.33 (dd, $J=8.08, 2.78$ Гц, 1H), 7.39 (dd, $J=8.72, 5.94$ Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{20}H_{28}BrFN_5OSi$, 480.12; эксп., 480.30.

Смесь указанного выше соединения (47.9 мг, 0.1 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазaborокана (149 мг, 0.5 ммоль), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (8.12 мг, 0.01 ммоль), 2 N Na_2CO_3 (0.25 мл, 0.5 ммоль) в ДМА (3 мл) дегазировали N_2 и нагревали при $85^\circ C$ в течение ночи. Анализ методом ЖХ/МС показывал (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-трет-бутилдиметилсилил оксим ([M+H] расч. для $C_{26}H_{34}BrFN_6O_2Si$, 509.24;

эксп., 509.40). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением коричневого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (11.8 мг, 30%) в форме белого твердого вещества.

Пример 64. (R)-4-(((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)оксазолидин-2-он (соединение 62)



Раствор (R)-3-трет-бутил 4-метил 2,2-диметил оксазолидин-3,4-дикарбоксилата (5 г, 19.3 ммоль) в безводном диэтилэфире охлаждали в ледяной ванне и добавляли 1 M LiAlH₄ в диэтилэфире (38 мл, 38.6 ммоль) капельно в атмосфере N₂. Реакционную смесь было допустимо нагревать до комнатной температуры с перемешиванием в течение ночи. Реакционную смесь гасили, медленно добавляя насыщенным водный Na₂SO₄ (5 мл). Суспензию фильтровали через целитную пластинку. Целитную пластинку промывали EtOAc и раствор сушили под вакуумом с получением (S)-трет-бутил 4-(гидроксиметил)-2,2-диметил оксазолидин-3-карбоксилата (2.77 г, 12 ммоль) в виде прозрачного масла.

[M+H] расч. для C₁₁H₂₁NO₄, 232; эксп., 232.

Использовали стандартный способ получения алкоксиаминов, состоящий из реакции Мицунобу и снятия гидразиновой защиты, как описано в примере 2.

[M+H] расч. для C₁₁H₂₂N₂O₄, 247; эксп., 247.

Использовали стандартное присоединение к остоу тиалактама через Hg(OAc)₂, как описано в примере 39.

[M+H] расч. для C₂₅H₃₂BrFN₆O₄, 580; эксп., 580.

К раствору (R)-трет-бутил 4-(((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)-2,2-диметил оксазолидин-3-карбоксилата в диоксане добавляли 4 N HCl в диоксане. Реакционную смесь было допустимо перемешивать в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение 90 мин. Реакционную смесь лиофилизировали до сухого состояния с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он-O-(R)-2-амино-3-гидроксипропил оксима (65 мг, 0.13 ммоль).

[M+H] расч. для C₁₇H₂₀BrFN₆O₂, 440; эксп., 440.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(R)-2-амино-3-гидроксипропил оксима (65 мг, 0.13 ммоль) в безводном дихлорметане (3 мл) добавляли триэтиламин (400 мкл, 22 эк) и трифосген (94 мг, 0.33 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь промывали H₂O×1 и сушили органическую фазу над безводным Na₂SO₄. Растворитель удаляли под вакуумом и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/H₂O с получением (R)-4-(((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)оксазолидин-2-она (12 мг, 0.026 ммоль).

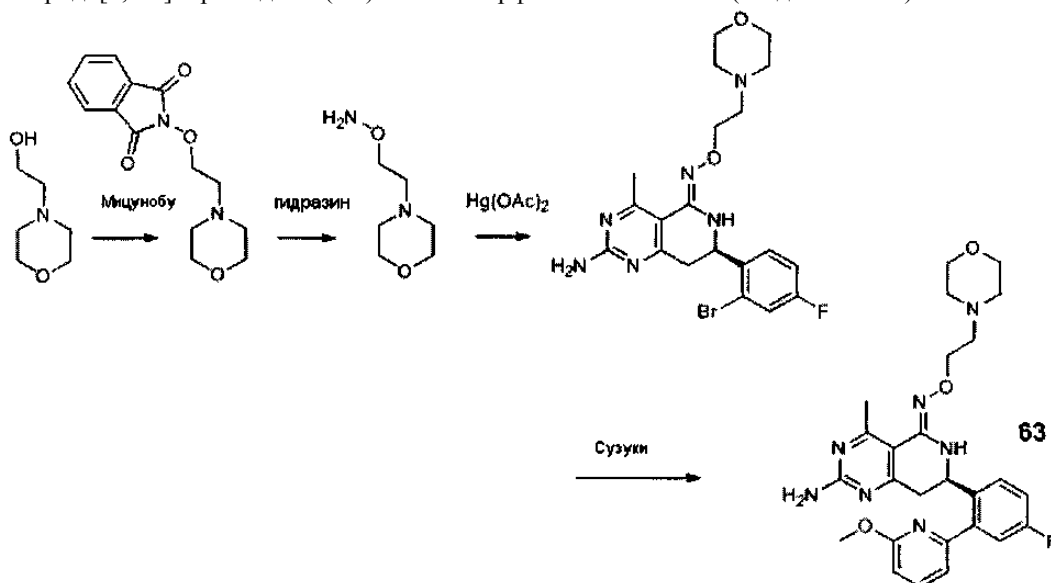
[M+H] расч. для C₁₈H₁₈BrFN₆O₃, 466; эксп., 466.

Были использованы стандартные условия Сузуки для присоединения пиридинового цикла, как описано в примере 39.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.76 (s, 3H), 3.03-3.19 (m, 1H), 3.33-3.53 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.97-4.08 (m, 1H), 4.07-4.24 (m, 2H), 4.29 (dd, J=8.72, 4.67 Гц, 1H), 4.42-4.55 (m, 1H), 5.05 (dd, J=8.97, 4.17 Гц, 1H), 6.79 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.14-7.29 (m, 2H), 7.66 (dd, J=8.59, 5.56 Гц, 1H), 7.77 (t, J=7.83 Гц, 1H).

[M+H] расч. для C₂₄H₂₄FN₇O₄, 494; эксп., 494.

Пример 65. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-морфолиноэтил оксим (соединение 63)



К раствору 2-морфолиноэтанола (5 г, 38 ммоль) в CH_2Cl_2 (250 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (9.3 г, 57 ммоль) и трифенилфосфин (15 г, 57 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и добавляли диизопропил азodicарбоксилат (11 мл, 57 ммоль) медленно по капле при помощи капельной воронки в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционную смесь концентрировали с получением прозрачного масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc-гексан). Полученное прозрачное маслянистое вещество растворяли в CH_2Cl_2 (50 мл). Добавляли гидразин гидрат (5.8 мл, 76 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением прозрачного масла О-(2-морфолиноэтил)гидроксиламина (3.5 г, 24 ммоль).

[M+H] расч. для $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$, 147; эксп., 147.

К раствору О-(2-морфолиноэтил)гидроксиламина (600 мг, 4.1 ммоль) в безводном толуоле (6 мл) добавляли (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тион (0.150 г, 0.41 ммоль) и ацетат ртути(II) (262 мг, 0.82 ммоль). Полученную смесь нагревали до 100°C в течение 1 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровать через целитную пластину с промыванием EtOAc и CH_3OH . Фильтрат концентрировали с получением желто-зеленого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/ H_2O . Фракции концентрировали с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-морфолиноэтил оксима (196 мг, 0.41 ммоль).

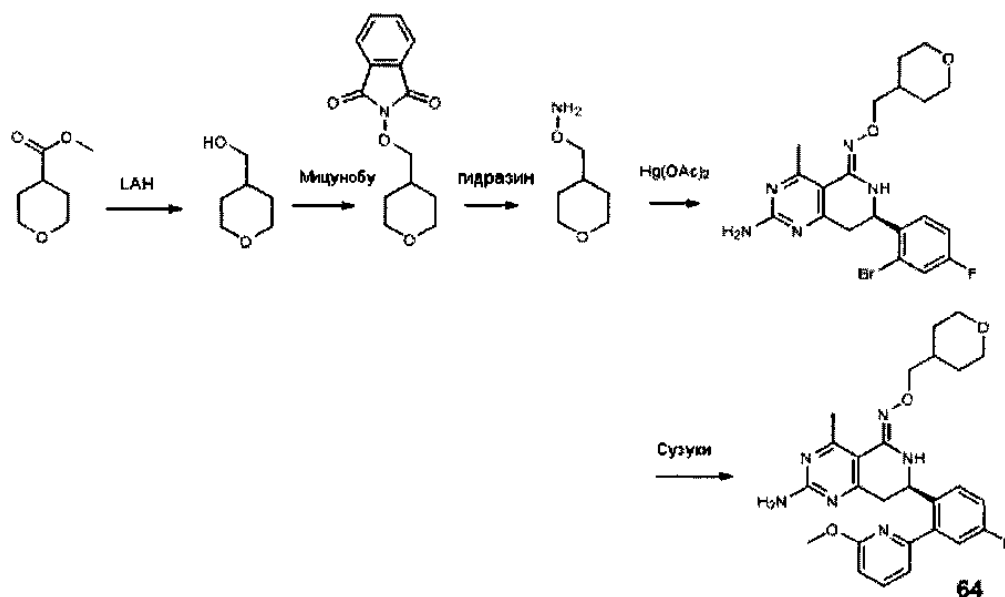
[M+H] расч. для $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{BrFN}_6\text{O}_2$, 480; эксп., 480.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-морфолиноэтил оксима (100 мг, 0.21 ммоль) в ДМА добавляли 6-метоксипиридин-2-бороновую кислоту N-фенилдиэтаноламин эфир (250 мг, 0.84 ммоль), $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ (17 мг, 0.02 ммоль) и 2 N Na_2CO_3 (522 мкл, 1.05 ммоль). Полученную смесь дегазировали N_2 в течение 5 мин, а затем нагревали в запечатанной колбе при 85°C в течение 14 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровать через целитную пластину, покрытую безводным Na_2SO_4 , промывая EtOAc и CH_3OH . Фильтрат концентрировали с получением коричневого остатка, который очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/ H_2O . Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя и сушили образец под вакуумом с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-морфолиноэтил оксима (67.4 мг, 0.13 ммоль).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 2.81 (s, 3H), 2.95 (td, $J=11.87$, 3.79 Гц, 2H), 3.12 (dd, $J=17.18$, 9.60 Гц, 1H), 3.34-3.56 (m, 3H), 3.70 (dd, $J=11.75$, 3.41 Гц, 2H), 3.84-4.06 (m, 7H), 4.39 (t, $J=4.80$ Гц, 2H), 4.94 (dd, $J=9.60$, 4.04 Гц, 1H), 6.81 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.06 (d, $J=1.01$ Гц, 1H), 7.08-7.21 (m, 2H), 7.50 (dd, $J=8.59$, 5.31 Гц, 1H), 7.68-7.81 (m, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_7\text{O}_3$, 508; эксп., 508.

Пример 66. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)метил оксим (соединение 64)



Раствор метил тетрагидро-2Н-пиран-4-карбоксилата (5 г, 34.6 ммоль) в безводном диэтилэфире охлаждали в ледяной ванне и добавляли 1 М LiAlH₄ в диэтилэфире (52 мл, 51.9 ммоль) капельно в атмосфере N₂. Реакционную смесь было допустимо нагревать до комнатной температуры, при перемешивании в течение ночи. Реакционную смесь гасили, медленно добавляя 1 N водный NaOH (3 мл). Суспензию фильтровали через целитную пластину. Целитную пластину промывали диэтилэфиром, а затем метанолом и сушили раствор под вакуумом с получением (тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)метанола (4 г, 34.6 ммоль) в виде прозрачного масла.

[M+H] расч. для C₆H₁₂O₂, 117; эксп., 117.

Использовали стандартный способ получения алкоксиаминов, состоящий из реакции Мицунобу и снятия гидразиновой защиты, как описано в примере 2.

[M+H] расч. для C₆H₁₃NO₂, 132; эксп., 132.

Использовали стандартное присоединение к остоу тиалактама через Hg(OAc)₂, как описано в примере 39.

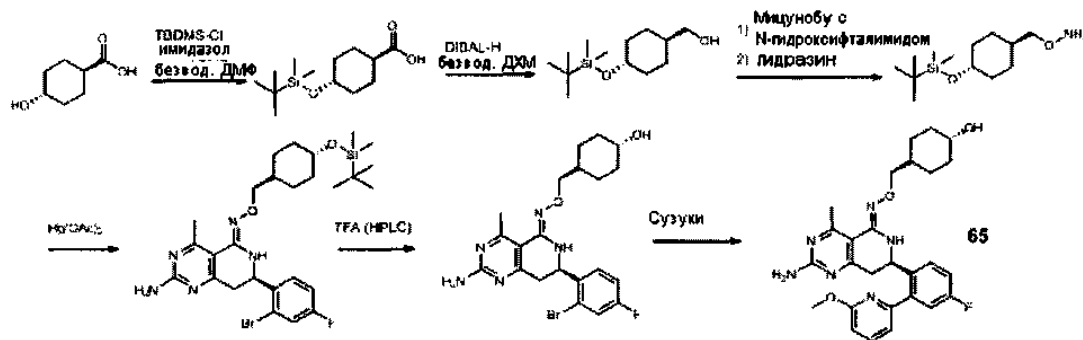
[M+H] расч. для C₂₀H₂₃BrFN₅O₂, 465; эксп., 465.

Использовали стандартные условия Сузуки для присоединения пиридилового кольца, как описано в примере 39.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.19-1.41 (m, 2H), 1.64 (d, J=12.88 Гц, 2H), 1.96-2.13 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 3.19 (dd, J=16.93, 8.59 Гц, 1H), 3.33-3.47 (m, 3H), 3.84-4.00 (m, 7H), 5.03-5.13 (m, 1H), 6.80 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.15-7.27 (m, 2H), 7.60 (dd, J=8.34, 5.56 Гц, 1H), 7.77 (t, J=7.83 Гц, 1H).

[M+H] расч. для C₂₆H₂₉FN₆O₃, 493; эксп., 493.

Пример 67. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-((1s,4S)-4-гидроксициклогексил)метил оксим (соединение 65)



К раствору (1r,4r)-4-гидроксициклогексанкарбоксильной кислоты (5 г, 34.7 ммоль) в безводном ДМФ (35 мл) добавляли имидазол (4.72 г, 69.4 ммоль) и ТБДМС хлорид (5.75 г, 38.2 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли диэтилэфиром и промывали 1 N водным HCl×2, а затем соевым раствором ×1. Органическую фазу сушили над безводным Na₂SO₄ и удаляли растворитель под вакуумом с полу-

чением (1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)циклогексанкарбоксильной кислоты (8.9 г, 34.7 ммоль) в виде прозрачного масла.

Раствор (1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)циклогексанкарбоксильной кислоты (8.9 г, 34.7 ммоль) в безводном дихлорметане (80 мл) охлаждали в ванне с сухим льдом/ацетоном и добавляли 20% по весу раствор ДИБАЛ-Г в толуоле (57 мл, 69.4 ммоль) капельно в атмосфере N₂. Реакционную смесь было допустимо нагревать до -30°C при перемешивании в течение 1 ч. Холодную реакционную смесь медленно наливали в охлажденный 1 N водный HCl (150 мл). Водную фазу промывали ДХМ×2 и объемные органические фазы промывали солевым раствором × 1 и сушили над безводным Na₂SO₄. Растворитель удаляли под вакуумом с получением ((1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)-циклогексил)метанола (4.5 г, 18.4 ммоль).

К раствору ((1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)циклогексил)метанолом (4.5 г, 18.4 ммоль) в CH₂Cl₂ (150 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (4.5 г, 27.6 ммоль) и трифенилфосфин (7.25 г, 27.6 ммоль). Полученную смесь охлаждали до 0°C и добавляли диизопропил азодикарбоксилат (5.35 мл, 27.6 ммоль) медленно по капле при помощи капельной воронки в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционную смесь концентрировали с получением прозрачного масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (50% EtOAc-гексан). Полученное прозрачное маслянистое вещество растворяли в CH₂Cl₂ (50 мл). Добавляли гидразин гидрат (1.47 мл, 19.3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением прозрачного масла O-(((1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)циклогексил)метил)-гидроксиламина (2.5 г, 9.66 ммоль).

[M+H] расч. для C₁₃H₂₉NO₂Si, 260; эксп., 260.

К раствору O-(((1*r*,4*r*)-4-(трет-бутилдиметилсилилокси)циклогексил)метил)гидроксиламина (530 мг, 2.05 ммоль) в безводном толуоле (8 мл) добавляли (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6H)-тион (0.150 г, 0.41 ммоль) и ртути ацетат (262 мг, 0.82 ммоль). Полученную смесь нагревали до 100°C в течение 1 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровать через целитную пластину, промывая EtOAc и CH₃OH. Фильтрат концентрировали с получением желто-зеленого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/H₂O. После высушивания фракций, полученных методом препаративной ВЭЖХ при 50°C в ротормном испарителе, получали чистый спирт и (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6H)-он O-((1*s*,4*S*)-4-гидроксициклогексил)метил оксим (63 мг, 0.13 ммоль).

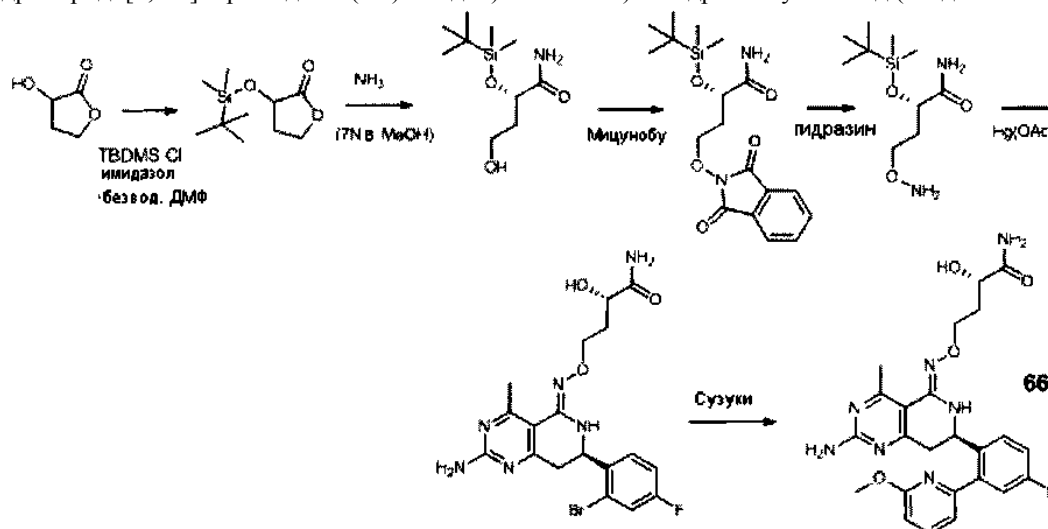
[M+H] расч. для C₂₁H₂₅BrFN₅O₂, 479; эксп., 479.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6H)-он O-((1*s*,4*S*)-4-гидроксициклогексил)метил оксима (63 мг, 0.13 ммоль) в ДМА добавляли 6-метоксипиридин-2-бороновую кислоту, N-фенилдиэтанолламин эфир (157 мг, 0.52 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (10.6 мг, 0.013 ммоль) и 2 N Na₂CO₃ (329 мкл, 0.65 ммоль). Полученную смесь дегазировали N₂ в течение 5 мин, затем нагревали в запечатанной колбе при 85°C в течение 14 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровали через целитную пластину, покрытую безводным Na₂SO₄, промывая EtOAc и CH₃OH. Фильтрат концентрировали с получением коричневого остатка, который очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/H₂O. Растворитель удаляли с помощью ротормного испарителя, сушили образец под вакуумом с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6H)-он O-((1*s*,4*S*)-4-гидроксициклогексил)метил оксима (10 мг, 0.02 ммоль).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.40-1.60 (m, 6H), 1.69 (dd, J=8.08, 4.55 Гц, 2H), 1.77-1.92 (m, 1H), 2.73 (s, 3H), 3.05-3.18 (m, 1H), 3.21-3.28 (m, 1H), 3.83-3.96 (m, 6H), 5.09 (dd, J=8.34, 4.55 Гц, 1H), 6.80 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=1.01 Гц, 1H), 7.15-7.25 (m, 2H), 7.58 (dd, J=8.34, 5.81 Гц, 1H), 7.71-7.82 (m, 1H).

[M+H] расч. для C₂₇H₃₁FN₆O₃, 507; эксп., 507.

Пример 68. (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксипутанамида (соединение 66)



К раствору 3-гидроксидигидрофуран-2(3H)-она (5 г, 49 ммоль) в безводном ДМФ (50 мл) добавляли имидазол (6.7 г, 98 ммоль) и ТБДМС хлорид (8.1 г, 54 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в атмосфере N_2 при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли диэтилэфиром и промывали 1 N водного $HCl \times 2$, а затем соевым раствором $\times 1$. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и удаляли растворитель под вакуумом с получением 3-(трет-бутилдиметилсилилокси)дигидрофуран-2(3H)-она (11 г, 49 ммоль) в виде прозрачного масла.

[M+H] расч. для $C_{10}H_{10}O_3Si$, 217; эксп., 217.

К раствору 3-(трет-бутилдиметилсилилокси)дигидрофуран-2(3H)-она (11 г, 49 ммоль) в метаноле добавляли 7 N аммония в метаноле (20 мл, 140 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в запечатанной колбе в течение 2 дней. Растворитель удаляли под вакуумом с получением (S)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-гидроксипутанамида (4.85 г, 20.8 ммоль) в форме белого твердого вещества.

[M+H] расч. для $C_{10}H_{23}NO_3Si$, 234; эксп., 234.

К раствору (S)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-гидроксипутанамида (4.85 г, 20.8 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл) добавляли 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (5.1 г, 31.2 ммоль) и трифенилфосфин (8.2 г, 31.2 ммоль). Полученную смесь охлаждали до $0^\circ C$ и добавляли диизопропил азодикарбоксилат (6.0 мл, 31.2 ммоль) медленно по капле при помощи капельной воронки в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционную смесь концентрировали с получением прозрачного масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (60% EtOAc-гексан). Полученное бледно-желтое соединение растворяли в CH_2Cl_2 (60 мл). Добавляли гидразин гидрат (670 мкл, 8.8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч. Полученное твердое вещество затем фильтровали и концентрировали фильтрат при пониженном давлении с получением прозрачного желтого масла (S)-4-(аминоокси)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)бутанамида (1.1 г, 4.4 ммоль).

[M+H] расч. для $C_{10}H_{24}N_2O_3Si$, 249; эксп., 249.

К раствору (S)-4-(аминоокси)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)бутанамида (1 г, 4.1 ммоль) в безводном толуоле (10 мл) добавляли (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тион (0.300 г, 0.82 ммоль) и ртути ацетат(II) (523 мг, 1.64 ммоль). Полученную смесь нагревали до $100^\circ C$ в течение 2 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровали через целитную пластину, промывая EtOAc и CH_3OH . Фильтрат концентрировали с получением желто-зеленого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/ H_2O . После высушивания фракций, полученных методом препаративной ВЭЖХ при $50^\circ C$ на ротарном испарителе, получали чистый спирт и получением (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксипутанамида (51 мг, 0.11 ммоль).

[M+H] расч. для $C_{18}H_{20}BrFN_6O_3$, 477; эксп., 477.

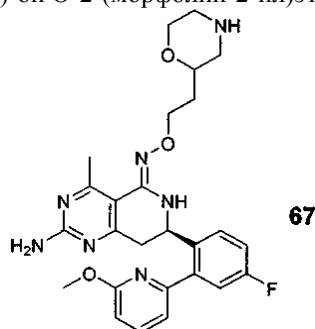
К раствору (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксипутанамида (51 мг, 0.11 ммоль) в ДМА добавляли 6-метоксипиридин-2-бороновую кислоту N-фенилдиэтаноламин эфир (130 мг, 0.44 ммоль), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (9 мг, 0.011 ммоль) и 2 N Na_2CO_3 (273 мкл, 0.55 ммоль). Полученную смесь дегазировали N_2 в течение 5 мин, затем нагревали в запечатанной колбе при $85^\circ C$ в течение 14 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровали через целитную пластину, покрытую безводным Na_2SO_4 , промывая EtOAc и CH_3OH . Фильтрат концентрировали с получением коричневого остатка, ко-

торый очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/Н₂О. Растворитель удаляли с помощью ротормного испарителя и сушили образец под вакуумом с получением (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксипропанамид (12.6 мг, 0.025 ммоль).

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.76-1.93 (m, 1H), 2.16-2.35 (m, 1H), 2.80 (s, 3H), 3.18 (dd, J=16.80, 9.22 Гц, 1H), 3.32-3.42 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.10 (dd, J=8.72, 3.16 Гц, 1H), 4.13-4.31 (m, 2H), 5.07 (dd, J=9.09, 4.04 Гц, 1H), 6.79 (d, J=8.08 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.15-7.28 (m, 2H), 7.66 (dd, J=8.59, 5.56 Гц, 1H), 7.71-7.83 (m, 1H).

[M+H]⁺ расч. для C₂₄H₂₆FN₇O₄, 496; эксп., 496.

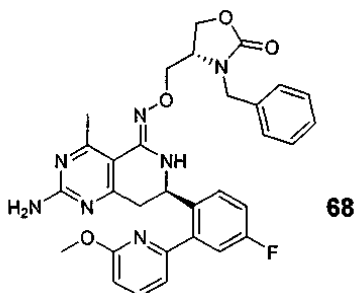
Пример 69. (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-(морфолин-2-ил)этил оксим (соединение 67)



¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.75-1.92 (m, 1H), 1.91-2.08 (m, 1H), 2.78 (s, 3H), 2.90 (t, J=11.87 Гц, 1H), 3.03-3.18 (m, 1H), 3.18-3.28 (m, 2H), 3.32-3.42 (m, 2H), 3.68-3.85 (m, 2H), 3.91 (s, 3H), 4.02 (d, J=12.88 Гц, 1H), 4.07-4.28 (m, 2H), 5.01-5.11 (m, 1H), 6.81 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.13 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.16-7.35 (m, 2H), 7.56-7.69 (m, 1H), 7.78 (t, J=7.83 Гц, 1H).

[M+H]⁺ расч. для C₂₆H₃₀FN₇O₃, 508; эксп., 508.

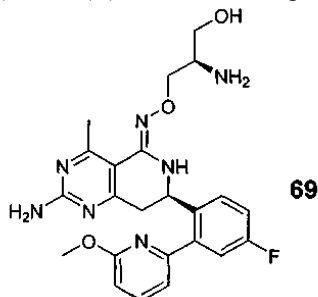
Пример 70. (S)-4-(((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)-3-бензилоксазолидин-2-он (соединение 68)



¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 2.48-2.65 (m, 3H), 2.97-3.16 (m, 1H), 3.19-3.35 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.90-3.99 (m, 1H), 4.00-4.16 (m, 2H), 4.15-4.27 (m, 1H), 4.26-4.39 (m, 1H), 4.72-4.86 (m, 1H), 4.90 (dd, J=10.23, 3.41 Гц, 1H), 5.47-5.63 (m, 1H), 6.74 (d, J=8.34 Гц, 1H), 6.97-7.06 (m, 1H), 7.10-7.21 (m, 2H), 7.20-7.26 (m, 5H), 7.57-7.71 (m, 2H).

[M+H]⁺ расч. для C₃₁H₃₀FN₇O₄, 584; эксп., 584.

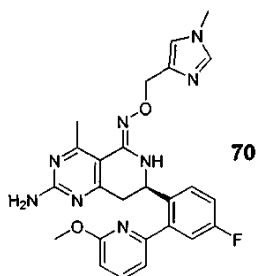
Пример 71. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(R)-2-амино-3-гидроксипропил оксим (соединение 69)



¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.81 (s, 3H), 2.90-3.00 (m, 1H), 3.02-3.16 (m, 1H), 3.69-3.78 (m, 1H), 3.82 (dd, J=11.37, 3.54 Гц, 2H), 3.91 (s, 3H), 4.13-4.34 (m, 2H), 5.03-5.10 (m, 1H), 6.72-6.92 (m, 1H), 7.13 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.16-7.34 (m, 2H), 7.63-7.75 (m, 1H), 7.79 (t, J=7.71 Гц, 1H).

[M+H]⁺ расч. для C₂₃H₂₆FN₇O₃, 468; эксп., 468.

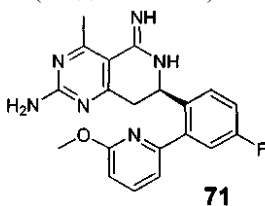
Пример 72. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(1-метил-1H-имидазол-4-ил)метил оксим (соединение 70)



^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.71 (s, 3H), 3.18 (dd, $J=16.80$, 9.22 Гц, 1H), 3.34-3.43 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 5.06-5.11 (m, 3H), 6.80 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.15-7.29 (m, 2H), 7.53-7.67 (m, 2H), 7.67-7.85 (m, 1H), 8.85 (br. s., 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{FN}_8\text{O}_2$, 489; эксп., 489.

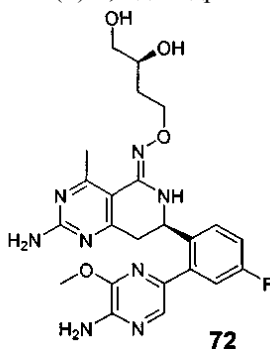
Пример 73. (R)-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-5-имино-4-метил-5,6,7,8-тетрагидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (соединение 71)



^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.56-2.66 (m, 3H), 3.28 (d, $J=7.83$ Гц, 2H), 3.88 (s, 3H), 5.32 (t, $J=7.83$ Гц, 1H), 6.75-6.86 (m, 1H), 7.11-7.22 (m, 1H), 7.23-7.36 (m, 2H), 7.72 (t, $J=6.82$ Гц, 1H), 7.74-7.84 (m, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{FN}_6\text{O}$, 379; эксп., 379.

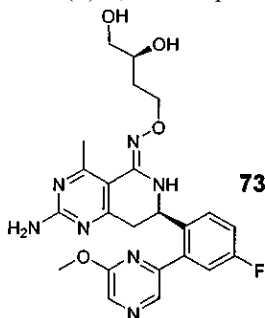
Пример 74. (R,Z)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксibuтил оксим (соединение 72)



^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.44-1.61 (m, 1H), 1.78-1.95 (m, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.86 (dd, $J=16.04$, 7.45 Гц, 1H), 3.08 (dd, $J=15.92$, 4.80 Гц, 1H), 3.20-3.30 (m, 2H), 3.47-3.58 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.96-4.07 (m, 2H), 4.40-4.51 (m, 2H), 4.95-5.06 (m, 1H), 6.22 (d, $J=1.52$ Гц, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.78 (s, 2H), 7.13-7.29 (m, 2H), 7.45 (dd, $J=8.46$, 5.94 Гц, 1H), 7.70 (s, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{FN}_8\text{O}_4$, 499; эксп., 499.

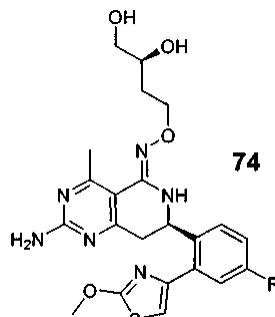
Пример 75. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиразин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксibuтил оксим (соединение 73)



^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.59-1.74 (m, 1H), 1.88-2.06 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 3.02 (dd, $J=16.29$, 9.22 Гц, 1H), 3.13-3.25 (m, 1H), 3.39-3.53 (m, 2H), 3.67-3.78 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 4.06-4.24 (m, 2H), 4.89-4.94 (m, 1H), 7.20-7.33 (m, 2H), 7.63-7.74 (m, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.32 (s, 1H).

[M+H] расч. для $C_{23}H_{26}FN_7O_4$, 484; эксп., 484.

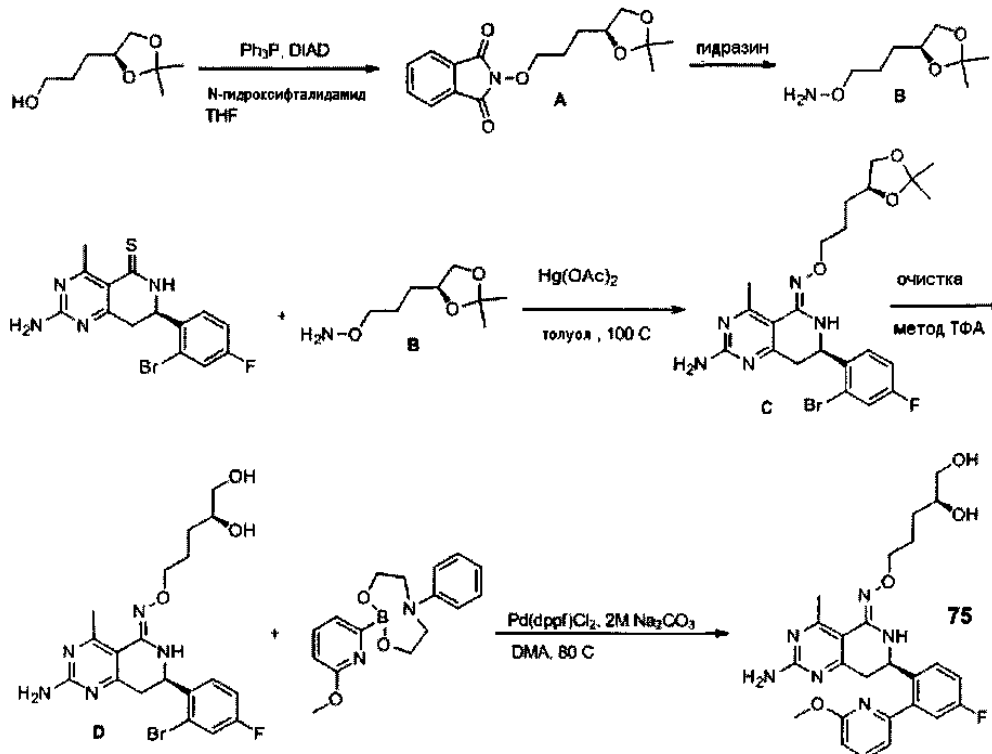
Пример 76. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-метокситиазол-4-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим (соединение 74)



1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.61-1.75 (m, 1H), 1.91-2.06 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.95 (dd, $J=16.17$, 8.08 Гц, 1H), 3.21 (dd, $J=16.17$, 4.80 Гц, 1H), 3.40-3.53 (m, 2H), 3.69-3.79 (m, 1H), 4.08 (s, 3H), 4.11-4.22 (m, 2H), 5.06 (dd, $J=7.71$, 4.93 Гц, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.10 (td, $J=8.46$, 2.78 Гц, 1H), 7.22 (dd, $J=9.60$, 2.78 Гц, 1H), 7.48 (dd, $J=8.72$, 5.68 Гц, 1H).

[M+H] расч. для $C_{22}H_{25}FN_6O_4S$, 489; эксп., 489.

Пример 77. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-4,5-дигидроксипентил оксим (соединение 75)



Соединение А синтезировали, как сообщалось ранее (70.7% выход).

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.36 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.71-2.01 (m, 4H), 3.43-3.67 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 4.16-4.31 (m, 3H), 7.70-7.79 (m, 2H), 7.80-7.91 (m, 2H).

Соединение В ((S)-О-(3-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)пропил)гидроксиламин) синтезировали, как сообщалось ранее, с использованием тех же химических реакций, количественный выход.

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.36 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.57-1.76 (m, 4H), 3.50-3.55 (m, 1H), 3.69 (td, $J=6.13$, 2.65 Гц, 2H), 4.02-4.07 (m, 1H), 4.07-4.16 (m, 1H), 5.36 (s, 2H).

Соединение С также получали способом, описанным ранее.

ESI-МС: m/z 508.2 (M+H) $^+$.

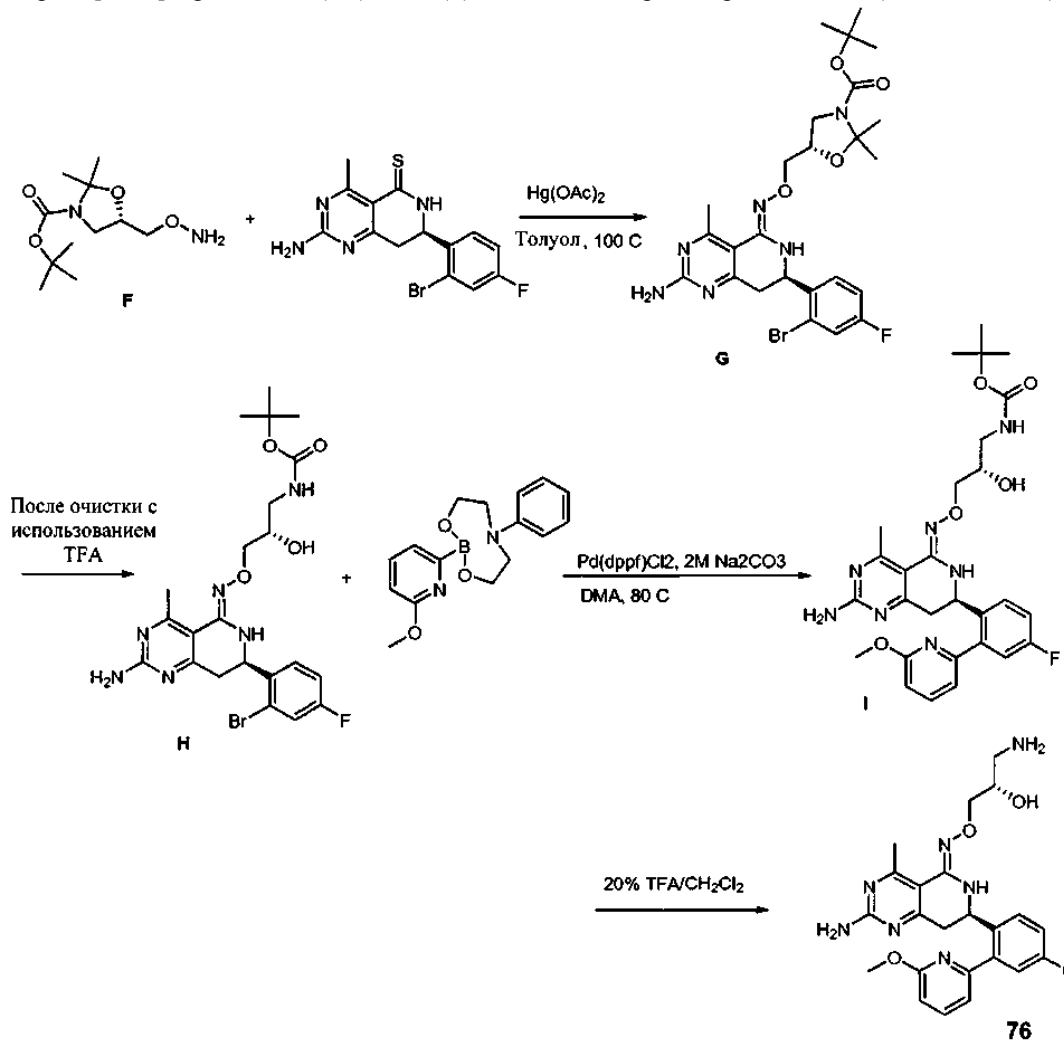
Очистка методом препаративной ТФА обеспечивала удаление защиты группы ацетонида и давала соединение D (55.1% выход).

1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 1.21-1.37 (m, 1H), 1.47-1.60 (m, 1H), 1.68 (ddd, $J=13.01$, 10.11, 5.94 Гц, 1H), 1.73-1.91 (m, 1H), 2.61 (s, 3H), 2.87 (dd, $J=16.17$, 4.29 Гц, 1H), 3.16-3.33 (m, 3H), 3.35-3.50 (m, 1H), 3.87-4.07 (m, 3H), 4.89-5.00 (m, 2H), 6.91 (br. s., 1H), 7.14-7.26 (m, 3H), 7.58 (dd, $J=8.46$, 2.40 Гц, 1H).

Реакция сочетания Сузуки соединения D с обычной процедурой давала соединение 75 (19.3% выход).

^1H -ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6) δ 1.16-1.33 (m, 2H), 1.48 (d, $J=4.55$ Гц, 1H), 1.62 (br. s., 1H), 1.76 (d, $J=10.36$ Гц, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.80 (dd, $J=16.04, 6.95$ Гц, 1H), 2.97-3.07 (m, 1H), 3.18-3.29 (m, 2H), 3.41 (br. s., 2H), 3.86 (s, 3H), 3.87-3.98 (m, 2H), 4.40 (br. s., 2H), 4.97-5.15 (m, 1H), 6.19-6.39 (m, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.85 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.19 (d, $J=6.57$ Гц, 1H), 7.21-7.30 (m, 2H), 7.47 (dd, $J=8.46, 5.94$ Гц, 1H), 7.84 (dd, $J=8.34, 7.33$ Гц, 1H).

Пример 78. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3-амино-2-гидроксипропил оксим (соединение 76)



Соединение F: ^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.26 (s, 9H), 1.28 (s, 6H), 3.65-3.74 (m, 2H), 3.89-3.93 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.28-4.41 (m, 1H), 5.58 (br. s., 2H).

Соединение G синтезировали, как описано выше.

ESI-МС: m/z 579.1 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Очищение G методом ЖХ/МС, градиент 35-60% АЦН в H_2O , с системой ТФА, и удаление защиты группы ацетонида с получением соединения H после этапа испарения.

ESI-МС: m/z 539.2 ($\text{M}+\text{H}^+$), 20.8% выход в 2 этапа.

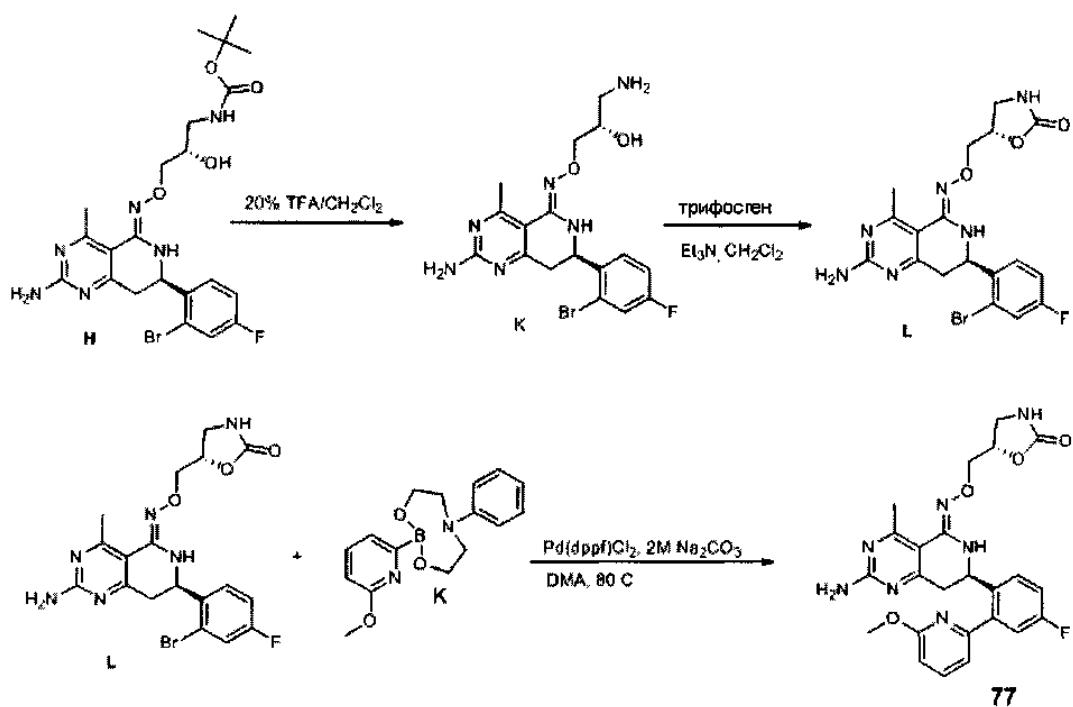
Реакция сочетания Сузуки соединения H давала соединение I.

ESI-МС: m/z 568.3 ($\text{M}+\text{H}^+$), с которого затем удаляли защиту 20% раствором ТФА в дихлорметане в течение 45 мин с получением в качестве продукта соединения 76.

Соединение 76 очищали в базовом режиме, градиент 25-50% АЦН в H_2O , выход 46.1%.

^1H -ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6) δ 2.52 (s, 3H), 2.69-2.86 (m, 2H), 3.05 (d, $J=4.55$ Гц, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.88 (dd, $J=5.81, 3.79$ Гц, 2H), 3.98 (br. s., 2H), 5.02 (br. s., 1H), 5.05 (br.s., 2H), 6.59 (d, $J=1.77$ Гц, 1H), 6.86 (d, $J=7.58$ Гц, 1H), 7.18 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.28 (ddd, $J=5.68, 2.78, 2.65$ Гц, 1H), 7.52 (dd, $J=8.59, 5.81$ Гц, 1H), 7.75 (br. s., 2H), 7.84 (dd, $J=8.34, 7.33$ Гц, 1H).

Пример 79. (S)-5-(((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)метил)оксазолидин-2-он (соединение 77)



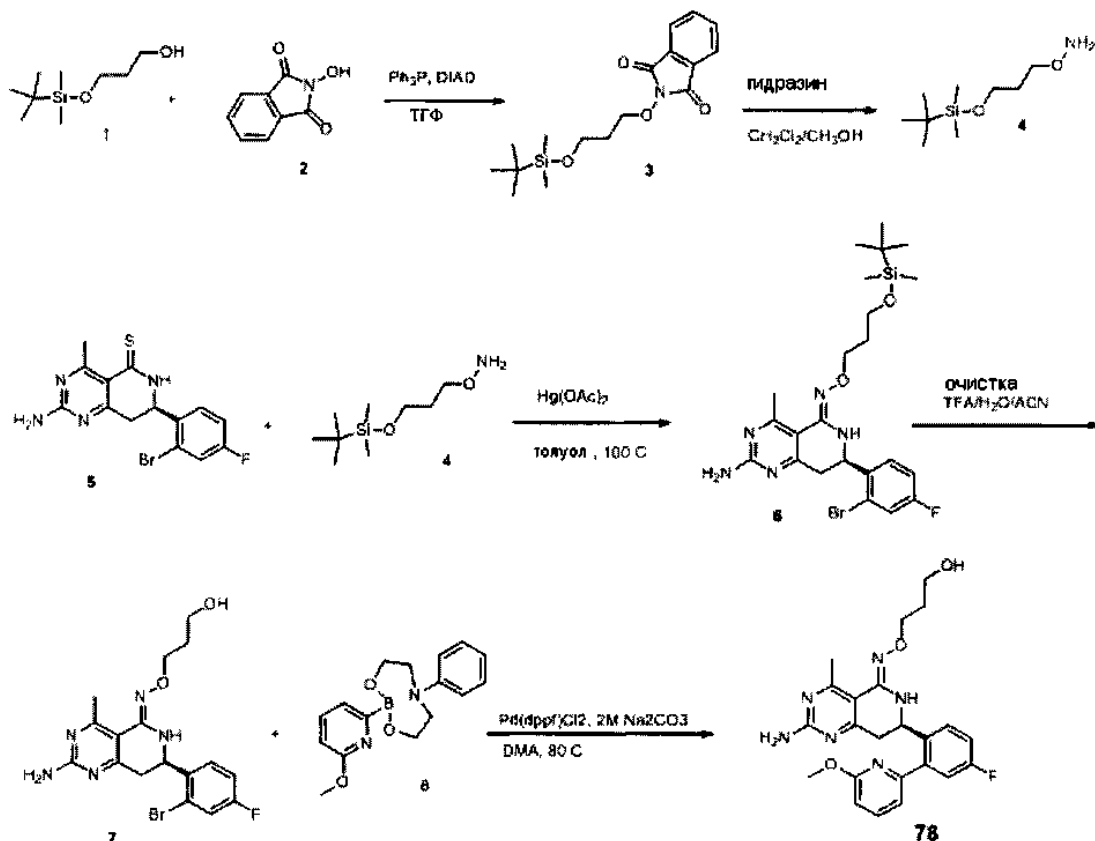
С соединения Н удаляли защиту 20% раствором ТФА в дихлорметане в течение 10 мин с получением соединения К, ESI-МС: m/z 439.1 (M+H)⁺.

Соединение К приводили в реакцию с трифосгеном, раствором триэтиламина в дихлорметане, как описано ранее, с получением соединения L. Его очищали методом препаративной ВЭЖХ, градиент 25-50% АЦН в Н₂О, выход 10.6%, ESI-МС: m/z 439.2 (M+H)⁺.

Реакция сочетания Сузуки соединения К с нормальной процедурой давала соединение 77, выход 32.7%.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.92 (s, 3H), 3.35-3.40 (m, 1H), 3.44-3.52 (m, 1H), 3.55-3.59 (m, 1H), 3.63-3.66 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.20 (dd, J=6.44, 4.67 Гц, 2H), 4.95 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 6.79 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.11 (d, J=6.57 Гц, 1H), 7.14-7.25 (m, 2H), 7.59 (m, 1H), 7.76 (dd, J=8.46, 7.20 Гц, 1H).

Пример 80. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-3-гидроксипропил оксим (соединение 78)



Соединение 3 получали, следуя процедуре, описанной выше, выход 78.7%.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.08 (s, 6H), 0.84-0.93 (m, 9H), 1.99 (s, 2H), 3.76-3.90 (m, 2H), 4.27-4.39 (m, 2H), 7.70-7.78 (m, 2H), 7.80-7.88 (m, 2H).

Соединение 4 получали, следуя процедуре, описанной выше, выход 93.2%.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.05-0.09 (m, 6H), 0.84-0.95 (m, 9H), 1.73-1.86 (m, 2H), 3.69 (t, $J=6.19$ Гц, 2H), 3.75 (t, $J=6.32$ Гц, 2H), 5.34 (s, 2H).

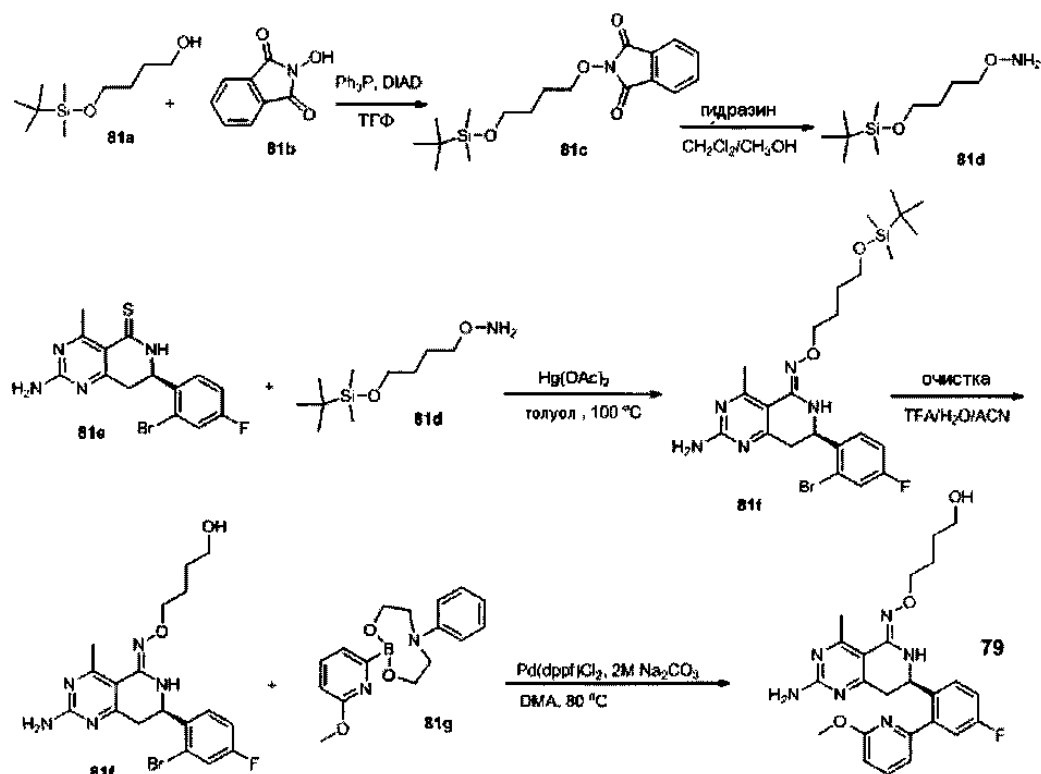
Соединение 6: ESI-МС: m/z 538.3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Очистку проводили методом препаративной ВЭЖХ, градиент 50-85% АЦН в H_2O с системой ТФА. После испарения получали соединение 7, 42.5% выход в 2 этапа, ESI-МС: m/z 424.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Соединение 78 очищали методом ЖХ/МС в базовом режиме, градиент 40-60% АЦН в H_2O , выход 45.9%.

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.77 (quin, $J=6.44$ Гц, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.82 (dd, $J=16.29$, 7.20 Гц, 1H), 3.04 (dd, $J=16.17$, 5.05 Гц, 1H), 3.42-3.54 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.91-4.04 (m, 2H), 4.97-5.13 (m, 1H), 6.37 (br. s., 1H), 6.85 (d, $J=7.58$ Гц, 1H), 6.90 (br. s., 2H), 7.19 (d, $J=6.82$ Гц, 1H), 7.21-7.33 (m, 2H), 7.47 (dd, $J=8.46$, 5.94 Гц, 1H), 7.84 (dd, $J=8.34$, 7.33 Гц, 1H).

Пример 81. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-4-гидроксипентил оксим (соединение 79)



Соединение 81с получали, следуя описанной выше процедуре, выход 88.0%.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.03-0.07 (m, 6H), 0.82-0.96 (m, 9H), 1.74 (d, J=8.84 Гц, 2H), 1.86 (d, J=8.34 Гц, 2H), 3.69 (t, J=6.19 Гц, 2H), 4.24 (t, J=6.57 Гц, 2H), 7.75 (dd, J=5.56, 3.03 Гц, 2H), 7.80-7.87 (m, 2H).

Соединение 81d получали, следуя описанной выше процедуре, выход 94.5%.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.060 (s, 6H), 0.85-0.94 (m, 9H), 1.51-1.59 (m, 3H), 1.59-1.69 (m, 2H), 3.63 (t, J=6.32 Гц, 2H), 3.65-3.72 (m, 2H), 5.35 (s, 2H).

Соединение 81f получали, следуя описанной выше процедуре.

ESI-МС: m/z 554.3 (M+H)⁺.

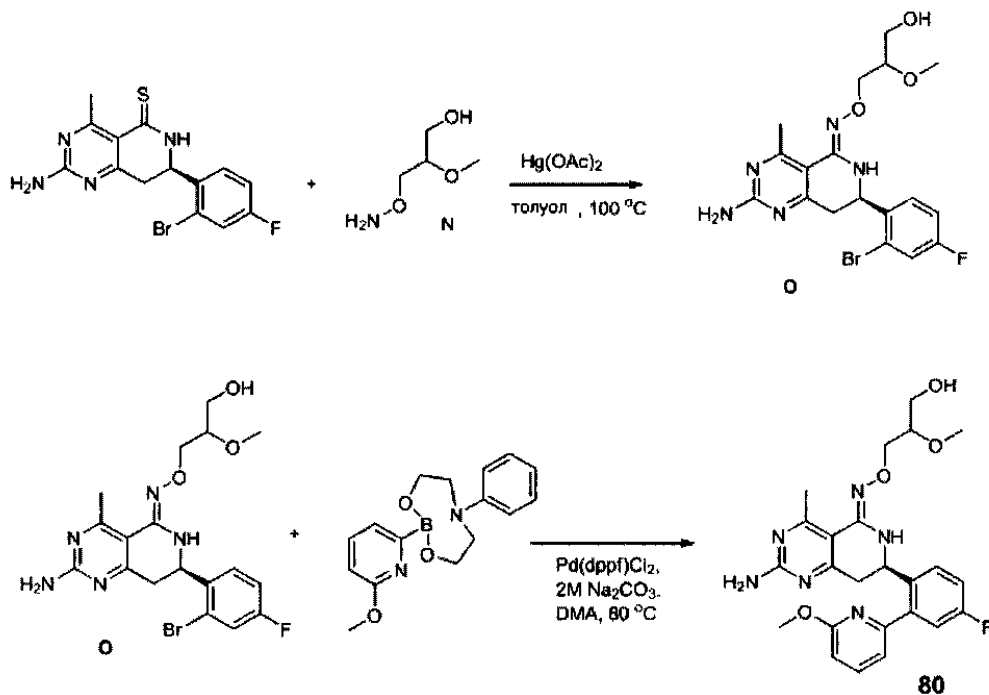
Очищали методом ЖХ/МС, используя систему ТФА, градиент 60-90% АЦН/Н₂O, удаляли защиту группы ТБДМС и получали соединение 15, 22.2% выход в 2 этапа.

ESI-МС: m/z 438.1 (M+H)⁺.

Соединение 79 получали, следуя описанной выше процедуре. Продукт очищали в базовом режиме, градиент 35-65% АЦН/Н₂O, 19.2% выход.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 1.37-1.56 (m, 2H), 1.56-1.74 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.81 (dd, J=16.04, 7.20 Гц, 1H), 3.03 (dd, J=16.17, 5.05 Гц, 1H), 3.40 (t, J=6.44 Гц, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.88-3.98 (m, 2H), 5.05 (br. s., 1H), 6.31 (br. s., 1H), 6.85 (d, J=8.34 Гц, 3H), 7.19 (d, J=6.57 Гц, 1H), 7.22-7.32 (m, 2H), 7.47 (dd, J=8.46, 5.94 Гц, 1H), 7.84 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

Пример 82. (7R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-3-гидрокси-2-метоксипропил оксим (соединение 80)



Соединение N: ESI-МС: m/z 122.0 ($M+H$)⁺.

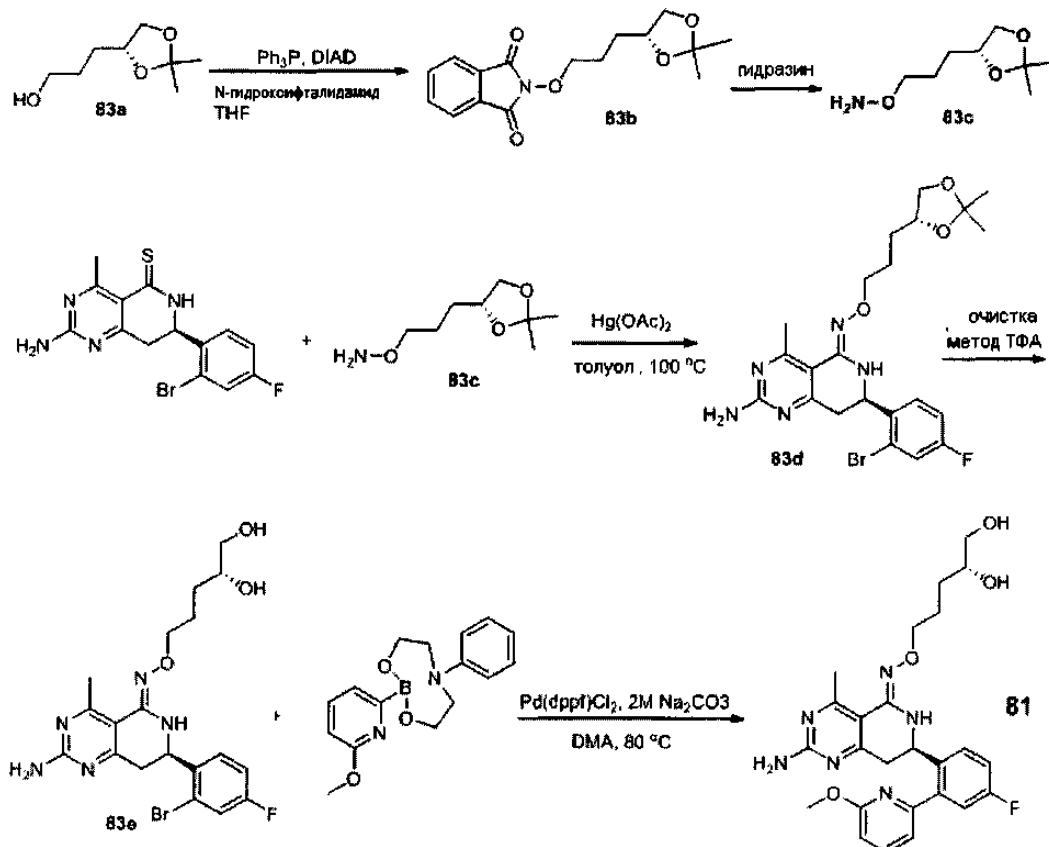
¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 3.33 (s, 3H), 3.40-3.46 (m, 3H), 3.67-3.75 (m, 1H), 3.75-3.83 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 5.52 (br. s., 2H).

Соединение О очищали методом препаративной ВЭЖХ, градиент 25-55% АЦН в H₂O, 4.9% выход, ESI-МС: m/z 454.3 ($M+H$)⁺.

Соединение 80 очищали методом препаративной ВЭЖХ, базовый режим, градиент 30-70% АЦН в H₂O, 16.1% выход.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.61 (s, 3H), 2.89-3.05 (m, 1H), 3.07-3.21 (m, 1H), 3.34 (d, $J=2.02$ Гц, 3H), 3.37-3.50 (m, 2H), 3.61-3.75 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.92-4.01 (m, 1H), 4.01-4.09 (m, 2H), 4.93-5.03 (m, 1H), 6.78 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.11 (d, $J=1.01$ Гц, 1H), 7.13-7.25 (m, 2H), 7.64 (dd, $J=8.46, 5.68$ Гц, 1H), 7.75 (t, $J=7.83$ Гц, 1H).

Пример 83. (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(R)-4,5-дигидроксипентил оксим (соединение 81)



Соединение 83b получали, следуя описанной выше процедуре.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.36 (s, 3H), 1.39-1.45 (s, 3H), 1.73-2.00 (m, 4H), 2.05 (s, 1H), 3.54-3.63 (m, 1H), 4.04-4.14 (m, 1H), 4.14-4.21 (m, 1H), 4.21-4.33 (m, 2H), 7.72-7.79 (m, 2H), 7.81-7.87 (m, 2H).

Соединение 83с получали, следуя описанной выше процедуре, 88.2% выход в 2 этапа.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.36 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.59-1.78 (m, 4H), 3.50-3.55 (m, 1H), 3.69 (td, J=6.25, 2.40 Гц, 2H), 4.01-4.07 (m, 1H), 4.11 (dd, J=7.07, 5.56 Гц, 1H), 5.36 (s, 2H).

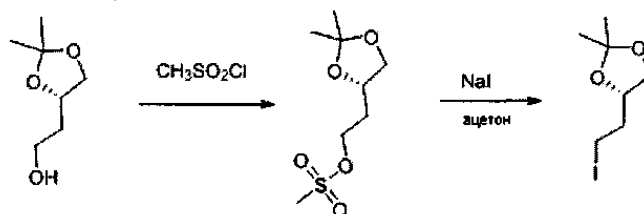
Соединение 83d: ESI-МС: m/z 508.3 (M+H)⁺.

Очистка методом ЖХ/МС, градиент 40-60% АЦН в H₂O (метод ТФА) давала соединение 5, ESI-МС: m/z 468.1 (M+H)⁺, 24.1% выход в 2 этапа.

Соединение 81, очистку осуществляли как в базовом режиме, так и в режиме кислой среды, выход 21.6%.

¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.35-1.52 (m, 1H), 1.59 (dt, J=10.04, 4.07 Гц, 1H), 1.74 (ddd, J=13.71, 10.04, 6.06 Гц, 1H), 1.82-2.08 (m, 1H), 3.14 (dd, J=16.67, 8.84 Гц, 1H), 3.28-3.35 (m, J=4.55 Гц, 1H), 3.38-3.49 (m, 2H), 3.54-3.68 (m, 1H), 3.84-3.97 (s, 3H), 4.06 (t, J=6.44 Гц, 2H), 5.08 (dd, J=8.84, 4.29 Гц, 1H), 6.79 (d, J=7.58 Гц, 1H), 7.12 (d, J=6.57 Гц, 1H), 7.15-7.24 (m, 2H), 7.62 (dd, J=8.59, 5.56 Гц, 1H), 7.76 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

Пример 84. (S)-4-(2-иодэтил)-2,2-диметил-1,3-диоксолан



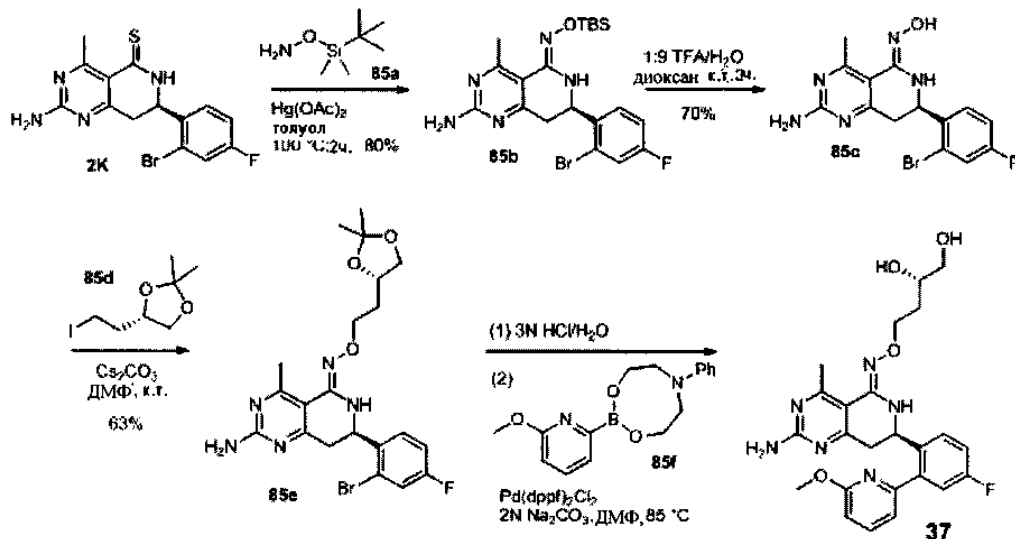
К раствору (S)-2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанола (1.58 мл, 10.0 ммоль) в CH₂Cl₂ (25 мл) добавляли ДМАР (120 мг, 1.0 ммоль) и триэтиламин (2.08 мл, 15.0 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до 0 °C и медленно добавляли метансульфонил хлорид (12.0 ммоль, 0.928 мл) каплями в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч (осуществляя мониторинг методом ТСХ, 1:2 EtOAc-гексаны). Добавляли насыщенный раствор NH₄Cl (20 мл) и экстрагировали смесь CH₂Cl₂. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое растворяли в сухом ацетоне (25 мл), после чего до-

бавляли NaI (7.5 г, 50 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч (осуществляя мониторинг методом ТСХ, 1:4 EtOAc-гексан), охлаждали до комнатной температуры и добавляли воду (50 мл). Экстрагировали этилацетатом, смывали объединенные органические фазы соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое затем очищали путем флэш-хроматографии (25% EtOAc-гексан) с получением указанного в названии соединения, (S)-4-(2-иодэтил)-2,2-диметил-1,3-диоксолан (0.82 г, 32% в два этапа) в виде прозрачного масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.36 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.99-1.16 (m, 2H), 3.25 (dd, $J=18.19$, 8.84 Гц, 1H), 3.58 (t, $J=7.20$ Гц, 1H), 4.03-4.13 (m, 1H), 4.13-4.24 (m, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{IO}_2$, 257.00; эксп., 257.08.

Пример 85. Альтернативный синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксипропил оксима (соединение 37)



Соединение 2K получали, как описано ранее. Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-тиона (2K, 366 мг, 1.0 ммоль), O-(трет-бутилдиметилсилил)гидроксиламина (85a, 588 мг, 4.0 ммоль), $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ (640 мг, 2.0 ммоль) и толуола (5 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали и полученный маслянистый осадок толкли с сухим метанолом с получением, после фильтрации и высушивания, (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он O-трет-бутилдиметилсилил оксима (384 мг, 80%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 0.22 (s, 3H), 0.23 (s, 3H), 0.97 (s, 9H), 2.70 (s, 3H), 2.91 (dd, $J=16.42$, 8.08 Гц, 1H), 3.19 (ddd, $J=16.36$, 4.86, 1.26 Гц, 1H), 4.99 (ddd, $J=7.77$, 5.12, 2.02 Гц, 1H), 7.05 (td, $J=8.27$, 2.65 Гц, 1H), 7.33 (dd, $J=8.08$, 2.78 Гц, 1H), 7.39 (dd, $J=8.72$, 5.94 Гц, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrFN}_3\text{OSi}$, 480.12; эксп., 480.30.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он O-трет-бутилдиметилсилил оксима (85b, 384 мг, 0.8 ммоль) в диоксане (2 мл) добавляли 1:9 ТФА- H_2O и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученное твердое вещество фильтровали и промывали диоксаном, затем сушили с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он оксима (85c, 206 мг, 70%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.56 (s, 3H), 2.83 (dd, $J=15.92$, 4.55 Гц, 1H), 3.17 (dd, $J=16.04$, 5.94 Гц, 1H), 4.90 (q, $J=4.97$ Гц, 1H), 7.20 (d, $J=1.52$ Гц, 1H), 7.21-7.23 (m, 1H), 7.57 (ddd, $J=8.34$, 1.64, 1.39 Гц, 1H), 9.82 (s, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{BrFN}_3\text{O}$, 366.03; эксп., 366.20.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он оксима (85c, 9.2 мг, 0.025 ммоль) в сухом ДМФ (1 мл) добавляли Cs_2CO_3 (12.2 мг, 0.0375 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли (S)-4-(2-иодэтил)-2,2-диметил-1,3-диоксолан (85d, 7.68 мг, 0.03 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение ночи. Анализ методом ЖХ/МС показал полное поглощение исходного материала. Реакционную смесь наливали в колотый лед и полученное твердое вещество фильтровали и промывали холодной водой. После высушивания получали (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3- d]пиримидин-5(6H)-он O-2-((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил оксим (7.8 мг, 63%) в форме светло-коричневого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 1.35 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 2.02 (qd, $J=6.32$, 3.03 Гц, 2H), 2.75

(s, 3H), 2.94 (dd, J=16.42, 8.84 Гц, 1H), 3.17 (dd, J=16.42, 4.55 Гц, 1H), 3.59 (dd, J=8.08, 7.07 Гц, 1H), 4.09 (dd, J=8.08, 6.06 Гц, 1H), 4.17-4.28 (m, 3H), 4.98 (ddd, J=8.72, 4.55, 1.64 Гц, 1H), 7.07 (td, J=8.27, 2.65 Гц, 1H), 7.34 (dd, J=8.08, 2.78 Гц, 1H), 7.43 (dd, J=8.72, 5.94 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{21}H_{27}BrFN_5O_3$, 495.11; эксп., 495.30.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-2-((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил оксима (85e, 1 г, 2 ммоль) в 3N водной HCl (10 мл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Анализ методом ЖХ/МС показал полное поглощение исходного материала. Получение твердое вещество фильтровали, промывали холодным 1 N HCl и сушили с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксibuтил оксима (удаляли защиту 85e, 603 мг, 65%) в форме беловатого твердого вещества.

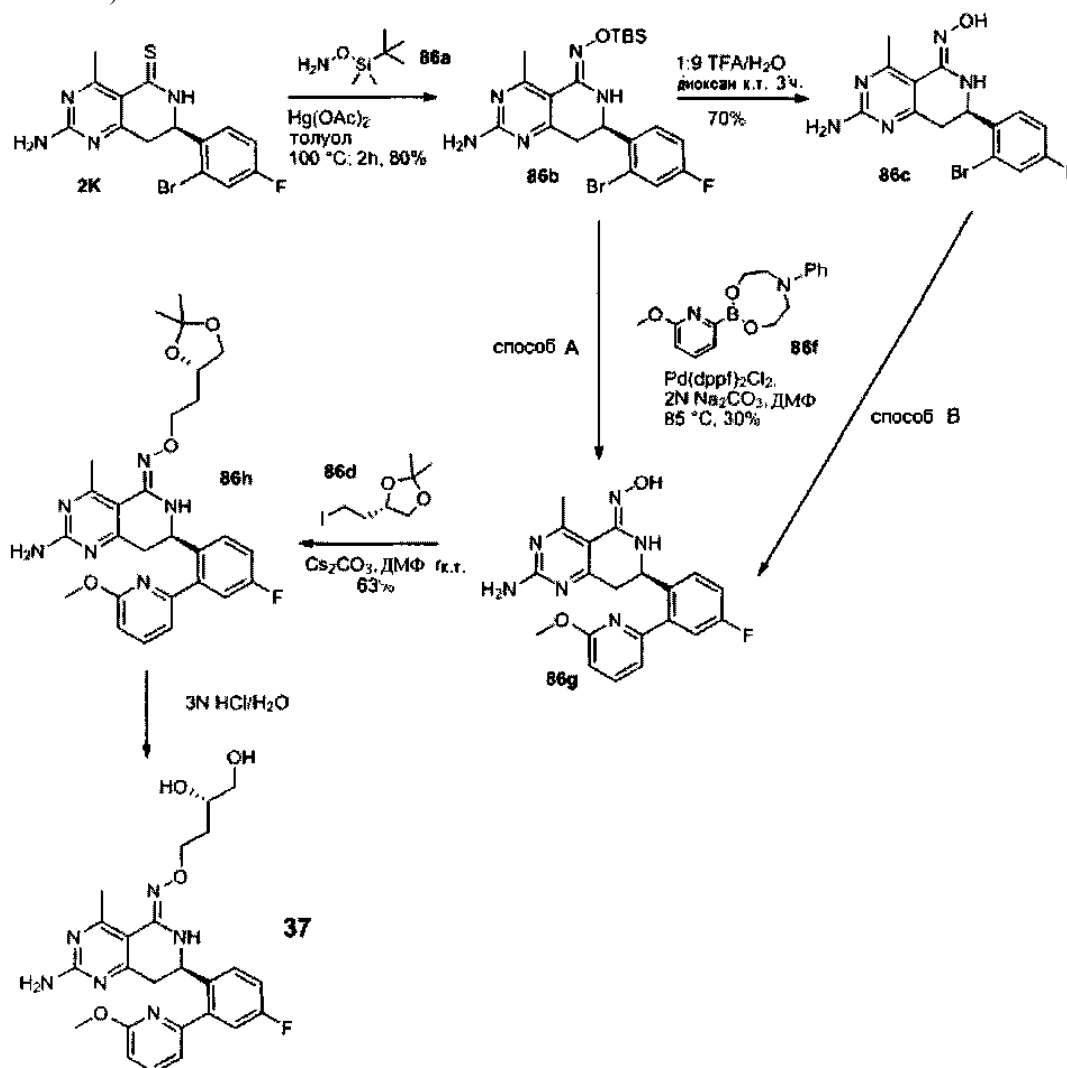
МС (ES) [M+H] расч. для $C_{18}H_{22}BrFN_5O_3$, 454.08; эксп., 454.02.

Смесь (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксibuтил оксима (удаляли защиту 85e, 480 мг, 1.05 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокан (1.57 г, 5.25 ммоль), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (0.086 г, 0.1 ммоль) и 2 N Na_2CO_3 (2.64 мл, 5.25 ммоль) в ДМАс (5 мл) дегазировали N_2 и нагревали при 85°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетат и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением коричневого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ (NH_4HCO_3 /АЦН/ H_2O) с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-(S)-3,4-дигидроксibuтил оксима (соединение 37, 375 мг, 73%) в форме светло-коричневого твердого вещества.

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.43-1.55 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.83-2.95 (m, 2H), 3.11-3.44 (m, 1H), 3.17-3.24 (m, 1H), 3.27-3.33 (m, 1H), 3.48-3.56 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.89-4.01 (m, 2H), 4.68 (ddd, J=10.23, 3.03, 2.91 Гц, 1H), 6.53 (dd, J=8.34, 2.53 Гц, 1H), 6.81 (dd, J=7.33, 2.53 Гц, 1H), 6.90 (dt, J=9.28, 2.68 Гц, 1H), 6.96 (td, J=8.40, 2.65 Гц, 1H), 7.38-7.43 (m, 1H), 7.44-7.51 (m, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{24}H_{28}FN_6O_4$, 483.21; эксп., 483.00.

Пример 86. Второй альтернативный способ синтеза (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим (соединение 37)



Соединение 86b получали, как описано в примере 85 выше. Реакцией сочетания 86f с 86b получали и методом А, и методом В.

Метод А. Смесь (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-трет-бутилдиметилсилил оксима (86b, 47.9 мг, 0.1 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (86f, 149 мг, 0.5 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (8.12 мг, 0.01 ммоль) и 2 N Na₂CO₃ (0.25 мл, 0.5 ммоль) в ДМА (3 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85 °C в течение ночи. Анализ методом ЖХ/МС показал полное поглощение исходного материала и образование (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-трет-бутилдиметилсилил оксима (86b или 61).

[M+H]⁺ расч. для C₂₆H₃₄BrFN₆O₂Si, 509.24; эксп., 509.40.

Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением коричневого масла, которое затем очищали методом препаративной ВЭЖХ. Во время очистки трет-бутилдиметилсилил защитную группу также удаляли и получали (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксим (37, 11.8 мг, 30%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.78 (s, 3H), 3.14-3.31 (m, 1H), 3.43-3.46 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 5.08 (d, J=7.58 Гц, 1H), 6.78 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.05 (d, J=7.07 Гц, 2H), 7.18 (d, J=8.84, 2H), 7.70 (t, J=7.71, 1H).

МС (ES) [M+H]⁺ расч. для C₂₀H₂₀FN₆O₂, 395.16; эксп., 395.20.

Метод В. (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксим (соединение 86c) получали, как описано в примере 85 ранее. Смесь 86c (36.5 мг, 0.1 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (86f, 149 мг, 0.5 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (8.12 мг, 0.01 ммоль) и 2 N Na₂CO₃ (0.25 мл, 0.5 ммоль) в ДМА (3 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85 °C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли

этилацетатом и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением коричневого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (86g или 61, 13.2 мг, 33%) в форме белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.78 (s, 3H), 3.14-3.31 (m, 1H), 3.43-3.46 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 5.08 (d, $J=7.58$ Гц, 1H), 6.78 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.05 (d, $J=7.07$ Гц, 2H), 7.18 (d, $J=8.84$, 2H), 7.70 (t, $J=7.71$, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{FN}_6\text{O}_2$, 395.16; эксп., 395.20.

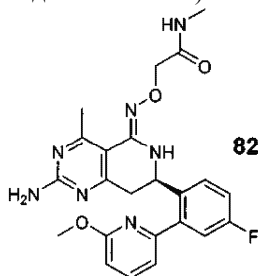
К раствору (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (86g или соединения 61, 10.0 мг, 0.025 ммоль) в сухом ДМФ (1 мл) добавляли Cs_2CO_3 (12.2 мг, 0.0375 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли (S)-4-(2-иодозтил)-2,2-диметил-1,3-диоксолан (86d, 7.68 мг, 0.03 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение ночи. Анализ методом ЖХ/МС показывал полное поглощение исходного материала. Реакционную смесь налили в толченый лед и полученное твердое вещество фильтровали, промывали холодной водой и сушили с получением (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-2-((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил оксима (86h, 8.2 мг, 63%) в форме светло-коричневого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 1.33 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.91-2.01 (m, 4H), 2.72 (s, 3H), 3.07 (dd, $J=16.55$, 10.48 Гц, 1H), 3.26 (dd, $J=17.05$, 4.93 Гц, 1H), 3.55 (dd, $J=7.96$, 7.20 Гц, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.05 (dd, $J=7.96$, 5.94 Гц, 1H), 4.10-4.21 (m, 3H), 4.89 (dd, $J=10.61$, 3.79 Гц, 1H), 6.74 (d, $J=8.84$ Гц, 1H), 7.01 (d, $J=8.08$ Гц, 1H), 7.11-7.22 (m, 2H), 7.61-7.69 (m, 2H).

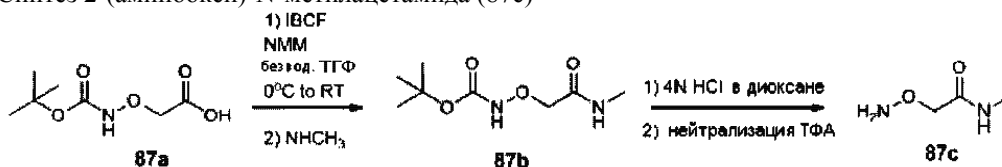
МС (ES) [M+H] расч. для $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{FN}_6\text{O}_4$, 523.24; эксп., 523.50.

Удаление защиты с 86h осуществляли путем обработки разбавленным HCl, как описано в примере 85, с получением соединения 37.

Пример 87. (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N-метилацетамид (соединение 82)



А. Синтез 2-(аминоокси)-N-метилацетамида (87с)



Раствор 2-(трет-бутоксикарбониламиноокси)уксусной кислоты (87a, 1 г, 5.23 ммоль) в безводном ТГФ охлаждали в ледяной ванне и последовательно добавляли N-метилморфолин (863 мкл, 7.85 ммоль) и изобутил хлорформат (746 мкл, 5.75 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N_2 в течение 20 мин. Добавляли 33% по весу раствор метанамина в этаноле (1.3 мл, 10.46 ммоль) к реакционной смеси, которую допускалось последовательно нагревать до комнатной температуры при перемешивании в течение ночи. ТГФ удаляли под вакуумом и остаток разделяли на этилацетат и воду. Органическую фазу промывали $\text{H}_2\text{O} \times 2$ и сушили над безводным Na_2SO_4 . Этилацетат удаляли под вакуумом с получением трет-бутил 2-(метиламино)-2-оксоэтоксикарбамата (87b, 775 мг, 3.80 ммоль).

К суспензии трет-бутил 2-(метиламино)-2-оксоэтоксикарбамата (87с, 775 мг, 3.80 ммоль) в безводном диоксане добавляли 4N HCl в диоксане (3 мл, 12 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать при комнатной температуре в атмосфере N_2 в течение 5 ч. Реакционную смесь сушили сублимацией и остаток разбавляли 20% триэтиламин в этилацетате, нейтрализуя соли HCl. Суспензию перемешивали в течение 1 ч и удаляли растворители под вакуумом с получением смеси 2-(аминоокси)-N-метилацетамида (87с) и соли триэтиламония хлорида.

В. Получение соединения 82.

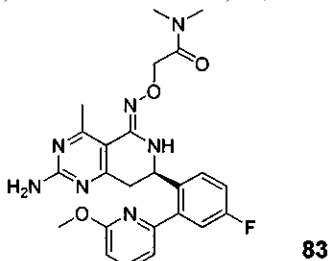
Обозначенное в заголовке соединение 82 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 68, реакцию сочетания 2-(аминоокси)-N-метилацетамида (87с) проводили через $\text{Hg}(\text{OAc})_2$.

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.75 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 3.19 (dd, $J=16.67$, 9.35 Гц, 1H), 3.41 (dd, $J=16.80$, 4.17 Гц, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.47 (s, 2H), 5.06 (dd, $J=9.35$, 4.04 Гц, 1H), 6.80 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.13

(d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.16-7.29 (m, 2H), 7.71 (dd, $J=8.84, 5.56$ Гц, 1H), 7.73-7.82 (m, 1H).

[M+H] расч. для $C_{23}H_{24}FN_7O_3$, 466; эксп., 466.

Пример 88. (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N,N-диметилацетамид (соединение 83)



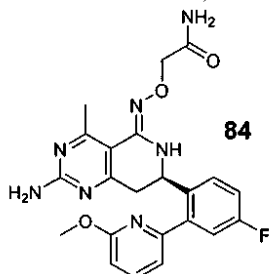
83

Соединение 83, указанное в названии, получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 87, с тем отличием, что использовали диметиламин.

^1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 2.74 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 3.04 (s, 3H), 3.10-3.24 (m, 1H), 3.35-3.45 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.69-4.81 (m, 2H), 5.06 (dd, $J=9.35, 4.04$ Гц, 1H), 6.79 (d, $J=8.08$ Гц, 1H), 7.13 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 7.16-7.29 (m, 2H), 7.70 (dd, $J=8.72, 5.68$ Гц, 1H), 7.73-7.82 (m, 1H).

[M+H] расч. для $C_{24}H_{26}FN_7O_3$, 480; эксп., 480.

Пример 89. (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)ацетамид (соединение 84)



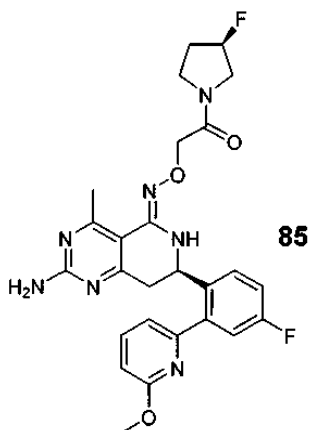
84

Соединение 84, указанное в названии, получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 87, с тем отличием, что использовали диметиламин.

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 2.73 (s, 3H), 3.09-3.23 (m, 1H), 3.34-3.43 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.46 (s, 2H), 5.01-5.12 (m, 1H), 6.80 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 7.16-7.28 (m, 2H), 7.64-7.73 (m, 1H), 7.73-7.82 (m, 1H).

[M+H] расч. для $C_{22}H_{22}FN_7O_3$, 452; эксп., 452.

Пример 90. 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-1-((R)-3-фторпирролидин-1-ил)этанон (соединение 85)



85

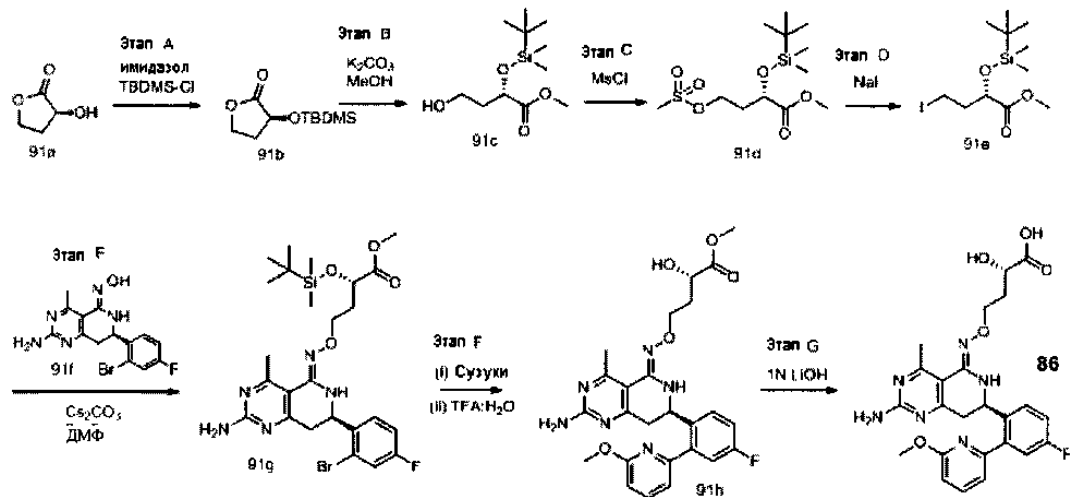
К раствору (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)уксусной кислоты (0.05 ммоль, 22.6 мг) в ДМФ (0.5 мл) добавляли ГБТУ (0.075 ммоль, 28 мг), Et_3N (0.125 ммоль, 17 мкл) и (R)-3-фторпирролидин (0.06 ммоль, 7.5 мг). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения (соединение 85, 13.0 мг, 50%) в форме коричневого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ ppm 2.05-2.40 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 3.06 (dd, $J=16.93, 10.36$ Гц, 1H),

3.27-3.38 (m, 1H), 3.39-3.62 (m, 4H), 3.63-3.78 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.47-4.67 (m, 2H), 4.87 (dd, $J=10.36$, 3.03 Гц, 1H), 5.11-5.36 (m, 1H), 6.69 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 6.97 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.06 (dd, $J=9.35$, 2.53 Гц, 1H), 7.13 (t, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.50-7.70 (m, 2H).

МС (ES) $[M+H]$ расч. для $C_{26}H_{28}F_2N_7O_3$, 524.53; эксп., 524.50.

Пример 91. (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксипутановая кислота (соединение 86)



Этап А.

К раствору (S)-3-гидроксидигидрофуран-2(3H)-она (91a, 5 г, 49 ммоль) в безводном ДМФ (40 мл) добавляли имидазол (6.7 г, 98 ммоль) и ТБДМС-хлорид (8.1 г, 54 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли диэтилэфиром и промывали 1 N HCl×3. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия и удаляли растворитель под вакуумом с получением (S)-3-(трет-бутилдиметилсилилокси)дигидрофуран-2(3H)-она (91b) в виде прозрачного масла (10.6 г, 49 ммоль).

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.15 (s, 3H), 0.18 (s, 3H), 0.86-0.99 (m, 9H), 2.23 (dq, $J=12.63$, 8.67 Гц, 1H), 2.46 (dddd, $J=12.63$, 7.58, 6.57, 3.28 Гц, 1H), 2.84-3.01 (m, 1H), 4.20 (td, $J=9.16$, 6.44 Гц, 1H), 4.33-4.47 (m, 2H).

Этап В.

К раствору (S)-3-(трет-бутилдиметилсилилокси)дигидрофуран-2(3H)-она (91b, 6 г, 27.8 ммоль) в метаноле (40 мл) добавляли карбонат калия (500 мг, 3.6 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Метанол удаляли под вакуумом и остаток разделяли между этилацетатом и водой. Органическую фазу промывали $\text{H}_2\text{O} \times 2$ и сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляли под вакуумом и получали (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-гидроксипутанат (91c, 3.9 г, 15.7 ммоль) в виде прозрачного масла.

$[M+H]$ расч. для $C_{11}H_{24}O_4Si$, 249; эксп., 249.

Этап С.

К раствору (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-гидроксипутаната (91c, 3.9 г, 15.7 ммоль) в безводном дихлорметане добавляли триэтиламин, ДМАП, и метилсульфонил хлорид. Реакционную смесь было допустимо перемешивать в течение 1.5 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным NH_4Cl . Водную фазу экстрагировали дихлорметаном и объединенные органические фазы промывали соевым раствором. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия и удаляли растворитель под вакуумом с получением (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилсульфонилбутаната (91d, 4.9 г, 15 ммоль) в форме желтого масла.

$[M+H]$ расч. для $C_{12}H_{26}O_6SSi$, 327; эксп., 327.

Этап D.

К раствору (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилсульфонилбутаната (91d, 4.9 г, 15 ммоль) в безводном ацетоне добавляли натрия иодид (11.5 г, 75 ммоль). Реакционную смесь нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 1.5 ч. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали в $\text{EtOAc} \times 3$. Объединенные органические фазы промывали соевым раствором, затем сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляли под вакуумом с получением (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-иодобутаната (91e, 4.33 г, 12 ммоль) в форме желтого масла.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 0.07-0.13 (m, 6H), 0.82-0.99 (m, 9H), 2.09-2.32 (m, 2H), 3.17-3.36 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.29 (dd, $J=8.08$, 4.04 Гц, 1H).

Этап E.

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-

5(6H)-он оксима (91e, 150 мг, 0.41 ммоль) в безводном ДМФ (2 мл) добавляли цезия карбонат (200 мг, 0.62 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в течение 1 ч, в то же время добавляя (S)-метил 2-(трет-бутилдиметилсилилокси)-4-метилсульфонилбутаноат (91f, 220 мг, 0.62 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в атмосфере азота в течение ночи. Реакционную смесь наливали в толченый лед с высвобождением (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)бутаноата (91 г, 244 мг, 0.41 ммоль) в форме темно-желтого осадка.

[M+H] расч. для $C_{25}H_{35}BrFN_5O_4Si$, 596; эксп., 596.

Этап F.

К раствору (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)бутаноата (91 г, 244 мг, 0.41 ммоль) в ДМА добавляли 6-метоксипиридин-2-бороновую кислоту N-фенилдиэтаноламин эфир (488 мг, 1.64 ммоль), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (66 мг, 0.08 ммоль) и 2 N Na_2CO_3 (2 мл, 4.1 ммоль). Полученную смесь дегазировали N_2 в течение 5 мин, затем нагревали в запечатанной колбе при 85°C в течение 14 ч. Реакционную смесь было допустимо охлаждать до комнатной температуры и фильтровали через целитную пластину, покрытую безводным Na_2SO_4 , промывая $EtOAc$ и CH_3OH . Фильтрат концентрировали с получением черного остатка, который очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/ H_2O . Фракции сушили под вакуумом с получением (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-(трет-бутилдиметилсилилокси)бутаноата. Полученный материал непосредственно добавляли в диоксан (700 мкл) и обрабатывали 1:9 ТФА: H_2O (1 мл) в течение 3 ч. Растворители удаляли под вакуумом с получением (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксидибутаноата (91h, 15 мг, 0.03 ммоль).

[M+H] расч. для $C_{25}H_{27}FN_6O_5$, 511; эксп., 511.

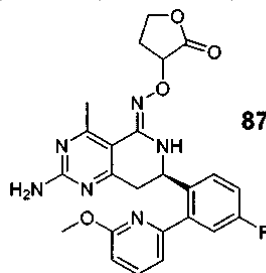
Этап G.

К раствору (S)-метил 4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксидибутаноата (91h, 15 мг, 0.03 ммоль) в диоксане (500 мкл) добавляли 1 N $LiOH$ (74 мкл, 0.08 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в течение 3 ч, одновременно с этим разбавляя 1:1 ДМСО:MeOH, затем очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя ТФА/АЦН/ H_2O . Фракции сушили под вакуумом с получением (S)-4-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-2-гидроксидибутановой кислоты (соединение 86, 7.1 мг, 0.014 ммоль) в форме желтого масла.

1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 1.86-2.08 (m, 1H), 2.18-2.35 (m, 1H), 2.70-2.87 (m, 3H), 3.18 (dd, $J=16.80, 9.22$ Гц, 1H), 3.31-3.44 (m, 1H), 3.84-3.97 (m, 3H), 4.10-4.32 (m, 3H), 5.08 (dd, $J=9.09, 4.04$ Гц, 1H), 6.79 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.14-7.31 (m, 2H), 7.66 (dd, $J=8.59, 5.56$ Гц, 1H), 7.76 (t, $J=7.83$ Гц, 1H).

[M+H] расч. для $C_{24}H_{25}FN_6O_5$, 497; эксп., 497.

Пример 92. 3-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)дигидрофуран-2(3H)-он (соединение 87)



К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (0.3 ммоль, 109 мг) в ДМФ (2.0 мл) добавляли Cs_2CO_3 (0.45 ммоль, 146 мг) и 3-бромодигидрофуран-2(3H)-он (0.36 ммоль, 33.6 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Реакционную смесь наливали в толченый лед, фильтровали полученное твердое вещество и сушили с получением 3-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)дигидрофуран-2(3H)-она (105 мг, 78%) в виде беловатого твердого вещества.

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{18}H_{18}BrFN_5O_3$, 450.05; эксп., 450.30.

Смесь полученного соединения (0.2 ммоль, 92 мг), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазоборакана (0.5 ммоль, 150 мг), $Pd(dppf)_2Cl_2$ (0.02 ммоль, 16 мг), 2 N Na_2CO_3 (1.0 ммоль, 0.5 мл) и ДМА (2.0 мл) дегазировали N_2 и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Охлаждали до комнатной температу-

ры, фильтровали через целит и очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидроксипутановой кислоты (29 мг, 29%) в форме коричневого твердого вещества.

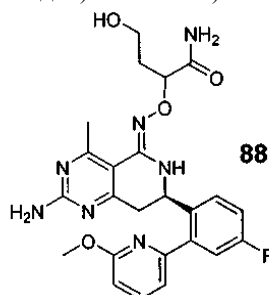
МС (ES) [M+H] расч. для $C_{24}H_{26}FN_6O_5$, 497.19; эксп., 497.00.

Полученное соединение растворяли в ТГФ (1.0 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли N-метил морфолин (0.15 ммоль, 16.5 мкл) и изобутил хлорформат (0.1 ммоль, 15.5 мкл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения 3-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)дигидрофуран-2(3H)она (5 мг, 21%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 2.52 (d, J=3.54 Гц, 1H) 2.66 (br. s., 3H) 2.95-3.11 (m, 1H) 3.27 (br. s., 2H) 3.79 (s, 3H) 4.19-4.29 (m, 1H) 4.34-4.45 (m, 1H) 4.73-4.91 (m, 2H) 6.67 (d, J=8.34 Гц, 1H) 6.94 (d, J=6.57 Гц, 1H) 7.00-7.15 (m, 2H) 7.49-7.66 (m, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{24}H_{24}FN_6O_4$, 479.47; эксп., 479.40.

Пример 93. 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидроксипутанамид (соединение 88)

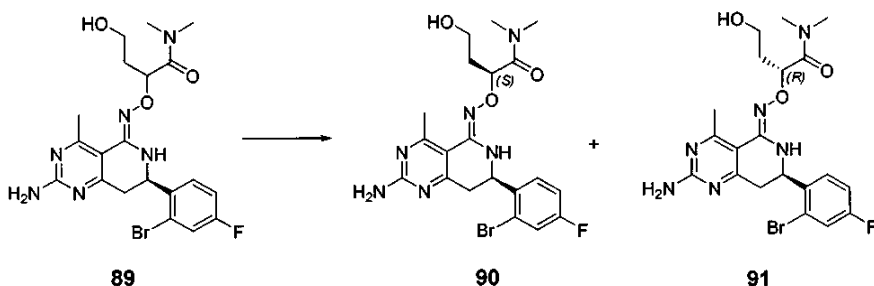


3-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)дигидрофуран-2(3H)он (14.3 мг, 0.03 ммоль) растворяли в растворе 7N NH_3 -MeOH и перемешивали в течение ночи в запечатанной колбе. Растворитель удаляли и остаток сушили с получением указанного в названии соединения 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидроксипутанамид (13.2 мг, 89%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 1.83-2.16 (m, 2H), 2.58 (d, J=6.06 Гц, 3H), 2.85-3.03 (m, 1H), 3.07-3.25 (m, 1H), 3.70 (q, J=7.24 Гц, 2H), 3.90 (d, J=11.37 Гц, 3H), 4.54 (td, J=7.83, 5.05 Гц, 1H), 4.97-5.17 (m, 1H), 6.69-6.85 (m, 1H), 7.11 (dd, J=7.71, 2.40 Гц, 1H), 7.14-7.26 (m, 2H), 7.57-7.72 (m, 1H), 7.76 (dd, J=15.03, 6.69 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{24}H_{27}FN_7O_4$, 496.50; эксп., 496.40.

Пример 94. 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (соединение 89) и хиральное разделение



К раствору 3-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)дигидрофуран-2(3H)она (310 мг, 0.668 ммоль) в ТГФ (2 мл) добавляли N,N-диметиламин (2.0M раствор в MeOH, 0.86 мл, 1.72 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Растворитель удаляли и очищали смесь методом ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (89, 80 мг, 24%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 2.63 (d, J=2.78 Гц, 3H), 2.84-2.99 (m, 1H), 3.01 (d, J=3.28 Гц, 3H), 3.08-3.25 (m, 4H), 3.61-3.93 (m, 2H), 4.99 (dddd, J=15.03, 4.86, 2.59, 2.27 Гц, 1H), 5.09-5.23 (m, 3H), 5.91 (d, J=9.09 Гц, 1H), 6.98-7.14 (m, 1H), 7.33 (ddd, J=7.89, 4.99, 2.53 Гц, 1H), 7.38-7.48 (m, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{20}H_{25}BrFN_6O_3$, 495.34; эксп., 495.30.

2-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-

илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (89) был разделен на его энантиомеры методом сверхкритической жидкостной хроматографии (SFC) при следующих условиях.

Колонка ChiralPak AS-H (250×21 мм, 5 мкм)

Подвижная фаза:

A: CO₂ (1)

B: i-PrOH

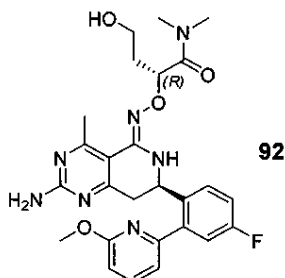
Параметры градиента: 25% i-PrOH

Время прогона: 8 мин

Расход: 50 мл/мин

Объем впрыска: 2000 мкл.

Пример 95. Синтез (R)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (соединение 92)

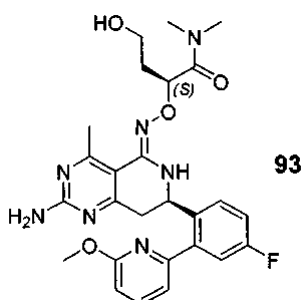


Смесь (R)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (31 мг, 0.063 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (93 мг, 0.313 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (9.16 мг, 0.013 ммоль), 2 N Na₂CO₃ (0.156 мл, 0.313 ммоль) и ДМА (2.0 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением (R)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (92, 14.4 мг, 43.9%) в форме беловатого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 2.08-2.16 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 3.02 (d, J=9.85 Гц, 1H), 3.10 (s, 3H), 3.16-3.33 (m, 1H), 3.62-3.81 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 4.94 (ddd, J=10.04, 3.98, 0.88 Гц, 1H), 5.03 (t, J=6.19 Гц, 1H), 5.27 (br. s., 2H), 5.79 (s, 1H), 6.74 (dd, J=8.34, 0.76 Гц, 1H), 7.01 (dd, J=7.33, 0.76 Гц, 1H), 7.07-7.23 (m, 2H), 7.65 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₆H₃₁FN₇O₄, 524.56; эксп., 524.40.

Пример 96. (S)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (соединение 93)

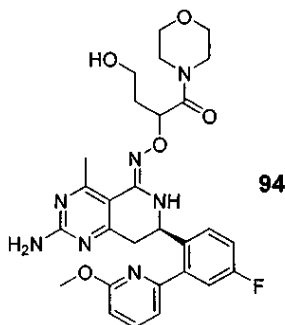


Смесь (S)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (26 мг, 0.052 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (78 мг, 0.262 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (7.68 мг, 0.01 ммоль), 2 N Na₂CO₃ (0.131 мл, 0.262 ммоль) и ДМА (2.0 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85°C в течение 4 ч. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением (S)-2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (93, 10.3 мг, 37%) в форме беловатого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 2.04-2.15 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 3.01-3.07 (t, 1H), 3.13 (s, 3H), 3.30 (ddd, J=16.42, 3.79, 1.52 Гц, 1H), 3.70-3.84 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 4.90 (dd, J=10.74, 3.66 Гц, 1H), 5.12 (t, J=6.32 Гц, 1H), 5.26 (br. s., 1H), 5.78 (s, 1H), 6.74 (dd, J=8.34, 0.76 Гц, 1H), 7.02 (dd, J=7.20, 0.88 Гц, 1H), 7.11-7.21 (m, 2H), 7.65 (dd, J=8.34, 7.07 Гц, 2H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₆H₃₁FN₇O₄, 524.56; эксп., 524.40.

Пример 97. 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-1-морфолинобутан-1-он (соединение 94)

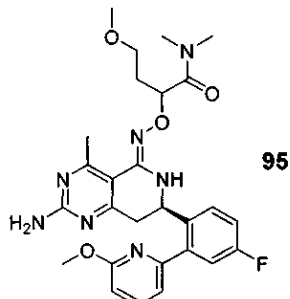


К раствору 3-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминооксидигидрофуран-2(3H) она (12.0 мг, 0.025 ммоль) в ТГФ (1.0 мл) добавляли морфолин (5.52 мкл, 0.063 ммоль) и реакцию перемешивали в течение ночи. Растворитель удаляли и очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-1-морфолинобутан-1-она (94, 5.7 мг, 40%) в форме белого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 1.79-2.03 (m, 2H), 2.57 (d, $J=7.07$ Гц, 3H), 2.99 (ddd, $J=16.86, 8.72, 8.53$ Гц, 1H), 3.10-3.18 (m, 1H), 3.22-3.29 (m, 4H), 3.46-3.55 (m, 4H), 3.57-3.62 (m, 2H), 3.81 (d, $J=5.81$ Гц, 3H), 4.95 (ddd, $J=19.45, 8.84, 4.80$ Гц, 1H), 5.00-5.06 (m, 1H), 6.70 (dd, $J=7.58, 6.06$ Гц, 1H), 7.03 (d, $J=6.57$ Гц, 1H), 7.06-7.16 (m, 2H), 7.54 (ddd, $J=19.20, 8.34, 5.81$ Гц, 1H), 7.67 (td, $J=7.83, 4.80$ Гц, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{FN}_7\text{O}_5$, 566.59; эксп., 566.50.

Пример 98. 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-метокси-N,N-диметилбутанамид (соединение 95)

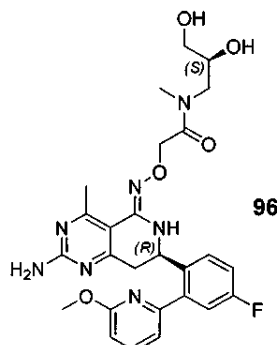


К раствору 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-гидрокси-N,N-диметилбутанамид (0.03 ммоль, 16 мг) в ТГФ (2 мл) добавляли 50% NaH (0.034 ммоль, 1.65 мг) при 0°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин и добавляли диметилсульфат (4.08 мкл, 0.043 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Гасили MeOH (1 мл) и очищали методом ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-4-метокси-N,N-диметилбутанамид (95, 3.6 мг, 25%) в форме беловатого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.81-2.06 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.70-2.80 (m, 1H), 2.83 (d, $J=10.61$ Гц, 3H), 3.05 (d, $J=7.58$ Гц, 3H), 3.07-3.17 (m, 1H), 3.20 (d, $J=4.80$ Гц, 3H), 3.31-3.39 (m, 2H), 3.40-3.49 (m, 2H), 3.87 (d, $J=3.79$ Гц, 3H), 4.80-4.93 (m, 1H), 5.06-5.22 (m, 1H), 6.83-6.90 (m, 1H), 7.20 (d, $J=8.84$ Гц, 1H), 7.23-7.32 (m, 2H), 7.44 (ddd, $J=14.34, 8.91, 5.81$ Гц, 1H), 7.85 (td, $J=7.83, 3.28$ Гц, 1H).

МС (ES) $[\text{M}+\text{H}]$ расч. для $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{FN}_7\text{O}_4$, 538.58; эксп., 538.40.

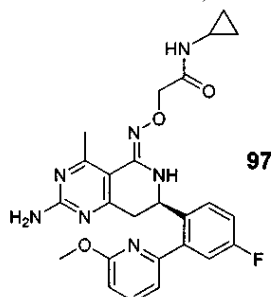
Пример 99. Синтез 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-N-((S)-2,3-дигидроксипропил)-N-метилацетамида (соединение 96)



^1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 2.57 (d, $J=5.31$ Гц, 3H), 2.89-3.21 (m, 5H), 3.34-3.65 (m, 4H), 3.75-3.88 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 4.55-4.77 (m, 4H), 5.01 (dt, $J=9.16, 4.64$ Гц, 1H), 6.77 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.12 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.13-7.25 (m, 2H), 7.67 (dd, $J=8.21, 5.68$ Гц, 1H), 7.75 (t, $J=7.83$ Гц, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_7\text{O}_5$, 540; эксп., 540.

Пример 100. Синтез (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N-циклопропилацетамида (соединение 97)

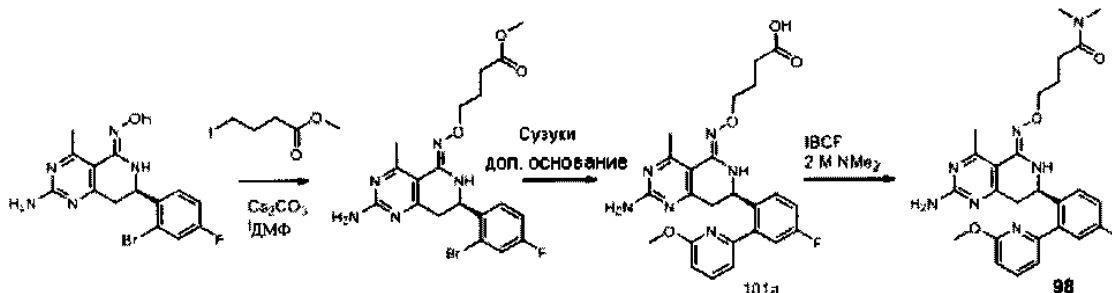


Указанное в названии соединение 97 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 87, с тем отличием, что использовали циклопропанамин.

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 0.43-0.53 (m, 2H), 0.68-0.79 (m, 2H), 2.67 (dt, $J=7.33, 3.41$ Гц, 1H), 2.71 (s, 3H), 3.09-3.21 (m, 1H), 3.37-3.52 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.43 (s, 2H), 5.06 (dd, $J=9.35, 4.29$ Гц, 1H), 6.80 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.13 (d, $J=7.07$ Гц, 1H), 7.15-7.29 (m, 2H), 7.69 (dd, $J=8.84, 5.56$ Гц, 1H), 7.72-7.83 (m, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{FN}_7\text{O}_3$, 492; эксп., 492.

Пример 101. Синтез (R,Z)-4-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N,N-диметилбутанамида (соединение 98)



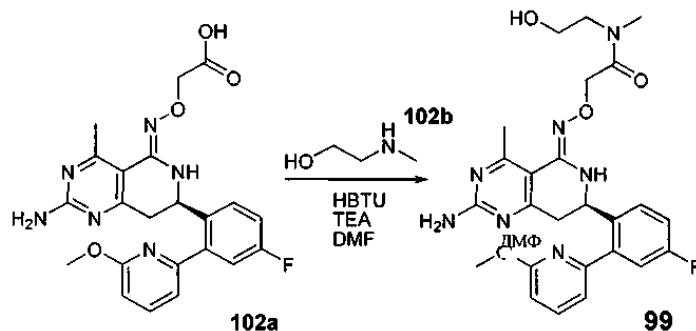
Раствор (R,Z)-4-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)бутановой кислоты (101a, 26 мг, 0.054 ммоль) в безводном ТГФ охлаждали в ледяной ванне и последовательно добавляли N-метилморфолин (90 мкл, 0.081 ммоль) и изобутил хлорформат (7.7 мкл, 0.060 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N_2 в течение 20 мин. 33% по весу раствор диметиламина в метаноле (54 мкл, 0.11 ммоль) добавляли в реакционную смесь, которую затем допускалось нагревать до комнатной температуры при перемешивании в течение ночи. ТГФ удаляли под вакуумом и остаток разделяли между этилацетатом и водой. Органическую фазу промывали $\text{H}_2\text{O} \times 2$ и сушили над безводным Na_2SO_4 . Этилацетат удаляли под вакуумом и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением (R,Z)-4-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N,N-диметилбутанамида (98, 6.4 мг, 0.0126 ммоль).

^1H -ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 1.91-2.05 (m, 2H), 2.46 (t, $J=7.33$ Гц, 1H), 2.70 (s, 3H), 2.87 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 3.02-3.16 (m, 1H), 3.25 (dd, $J=16.55, 4.67$ Гц, 1H), 3.91 (s, 3H), 4.00-4.12 (m, 2H), 5.05 (dd, $J=8.59,$

4.55 Гц, 1H), 6.79 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.15-7.25 (m, 2H), 7.59 (dd, J=8.46, 5.68 Гц, 1H), 7.71-7.82 (m, 1H).

[M+H] расч. для C₂₆H₃₀FN₇O₃, 508; эксп., 508.

Пример 102. Синтез (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N-(2-гидроксиэтил)-N-метилацетамид (соединение 99)

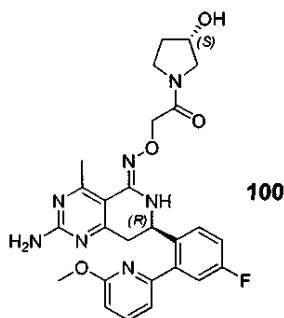


К раствору (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)уксусной кислоты (102a, 43 мг, 0.095 ммоль) в безводном ДМФ (1 мл) добавляли 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурионий гексафлюорофосфат (72 мг, 0.19 ммоль), триэтиламин (53 мкл, 0.39 ммоль) и в конце 2-(метиламино)этанол (102b, 16 мкл, 0.19 ммоль). Реакционную смесь было допустимо перемешивать в атмосфере азота в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли в пропорции 1:1 ДМСО:MeOH и очищали методом препаративной ВЭЖХ, разбавляя NH₄HCO₃/АЦН/H₂O. Указанное в названии соединение (соединение 99, 11 мг, 0.022 ммоль) высвобождали из фракций, полученных методом ВЭЖХ в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 2.57 (d, J=4.04 Гц, 3H), 2.86-3.21 (m, 5H), 3.44-3.55 (m, 2H), 3.66-3.73 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 4.69-4.82 (m, 2H), 5.01 (dt, J=9.09, 4.29 Гц, 1H), 6.77 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.33 Гц, 1H), 7.14-7.24 (m, 2H), 7.60-7.70 (m, 1H), 7.70-7.80 (m, 1H).

[M+H] расч. для C₂₅H₂₈FN₇O₄, 510; эксп., 510.

Пример 103. Синтез 2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиден)аминоокси)-1-((S)-3-гидроксипирролидин-1-ил)этанона (соединение 100)

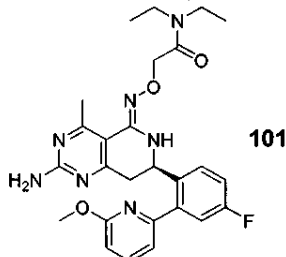


Указанное в названии соединение 100 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 102, с тем отличием, что использовали (S)-пирролидин-3-ол.

¹H-ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 1.82-2.13 (m, 2H), 2.57 (d, J=3.03 Гц, 3H), 2.95 (ddd, J=16.23, 8.91, 3.92 Гц, 1H), 3.09-3.22 (m, 2H), 3.38-3.54 (m, 2H), 3.54-3.74 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 4.41 (d, J=9.35 Гц, 1H), 4.55-4.73 (m, 2H), 4.96-5.08 (m, 1H), 6.78 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.12 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.13-7.24 (m, 2H), 7.64 (dt, J=8.53, 5.84 Гц, 1H), 7.75 (t, J=7.83 Гц, 1H).

[M+H] расч. для C₂₆H₂₈FN₇O₄, 522; эксп., 522.

Пример 104. Синтез (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-N,N-диэтилацетамида (соединение 101)

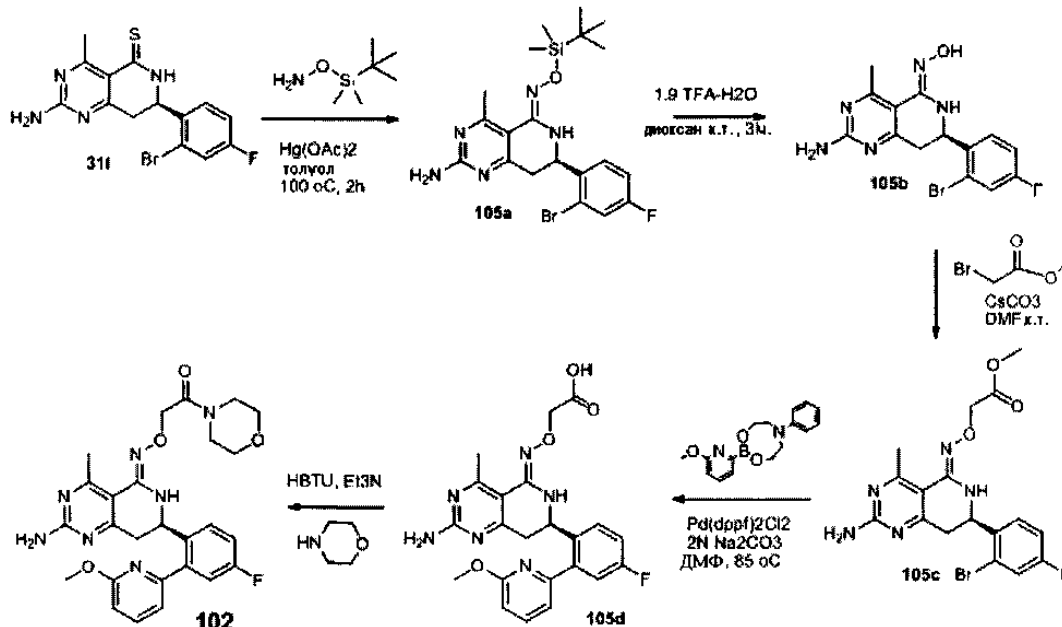


Указанное в названии соединение 101 получали, следуя процедуре, аналогичной примеру 102.

^1H -ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 1.12 (t, $J=1.01$ Гц, 3H), 1.15-1.26 (m, 3H), 2.71 (s, 3H), 3.17 (dd, $J=16.80, 9.47$ Гц, 1H), 3.32-3.46 (m, 5H), 3.89 (s, 3H), 4.65-4.81 (m, 2H), 5.05 (dd, $J=9.47, 4.17$ Гц, 1H), 6.79 (d, $J=8.34$ Гц, 1H), 7.13 (d, $J=7.33$ Гц, 1H), 7.15-7.29 (m, 2H), 7.70 (dd, $J=8.59, 5.56$ Гц, 1H), 7.72-7.83 (m, 1H).

[M+H] расч. для $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FN}_7\text{O}_3$, 508; эксп., 508.

Пример 105. Синтез (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиримидин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-1-морфолиноэтанона (соединение 102)



А. (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-трет-бутилдиметилсилилоксим (105а).

Смесь (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-тиона (31I, 366 мг, 1.0 ммоль), О-(трет-бутилдиметилсилил)гидроксиламина (588 мг, 4.0 ммоль), $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ (640 мг, 2.0 ммоль) и толуола (5 мл) нагревали при 100°C в течение 2 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали и полученный маслянистый осадок толкли с сухим метанолом с получением бледно-желтого твердого вещества. Фильтровали и сушили с получением ((R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-трет-бутилдиметилсилил оксима (105а, 384 мг, 80%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- d) δ ppm 0.22 (s, 3H), 0.23 (s, 3H), 0.97 (s, 9H), 2.70 (s, 3H), 2.91 (dd, $J=16.42, 8.08$ Гц, 1H), 3.19 (ddd, $J=16.36, 4.86, 1.26$ Гц, 1H), 4.99 (ddd, $J=7.77, 5.12, 2.02$ Гц, 1H), 7.05 (td, $J=8.27, 2.65$ Гц, 1H), 7.33 (dd, $J=8.08, 2.78$ Гц, 1H), 7.39 (dd, $J=8.72, 5.94$ Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrFN}_5\text{OSi}$, 480.12; эксп., 480.30.

В. (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксим (105b).

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он О-трет-бутилдиметилсилил оксима (105а, 384 мг, 0.8 ммоль) в диоксане (2 мл) добавляли 1:9 ТФА- H_2O и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученную соль фильтровали и промывали диоксаном. Полученное твердое вещество сушили с получением (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (105b, 206 мг, 70%) в форме бледно-желтого твердого вещества.

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.56 (s, 3H), 2.83 (dd, $J=15.92, 4.55$ Гц, 1H), 3.17 (dd, $J=16.04, 5.94$ Гц, 1H), 4.90 (q, $J=4.97$ Гц, 1H), 7.20 (d, $J=1.52$ Гц, 1H), 7.21-7.23 (m, 1H), 7.57 (ddd, $J=8.34, 1.64, 1.39$ Гц, 1H), 9.82 (s, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{BrFN}_5\text{O}$, 366.03; эксп., 366.20.

С. (R,Z)-метил 2-(2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)ацетат (105с).

К раствору (R,Z)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (105с, 150 мг, 0.4 ммоль) в сухом ДМФ (1 мл) добавляли CsCO_3 (195 мг, 0.6 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли метил 2-бромацетат (45 мкл, 0.48 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение ночи. ЖХ/МС показывал готовность исходного материала. Реакционную смесь наливали в толченый лед, фильтровали полу-

чившуюся соль и промывали холодной водой. Полученное твердое вещество сушили с получением (R,Z)-метил 2-(2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)ацетата (105с, 172 мг, 99%) в форме светло-коричневого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.66 (s, 3H), 3.12-3.18 (m, 1H), 3.24-3.32 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 4.57 (s, 2H), 4.96 (ddd, J=8.40, 4.48, 1.77 Гц, 1H), 7.01 (td, J=8.27, 2.65 Гц, 1H), 7.23-7.29 (m, 1H), 7.39 (dd, J=8.84, 5.81 Гц, 0H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₁₇H₁₈BrFN₅O₃, 438.05; эксп., 438.00.

D. (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)уксусная кислота (105d).

Смесь (R,Z)-метил 2-(2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)ацетата (105с, 175 мг, 0.4 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксазаборокана (298 мг, 1.0 ммоль), Pd(dppf)₂Cl₂ (32.5 мг, 0.04 ммоль), 2 N Na₂CO₃ (1.0 мл, 2.0 ммоль) в ДМА (3 мл) дегазировали N₂ и нагревали при 85°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и фильтровали через целит. Фильтрат концентрировали с получением коричневого масла, которое очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)уксусной кислоты (105d, 56 мг, 31%) в форме белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.79 (s, 3H), 3.16 (dd, J=17.05, 10.48 Гц, 1H), 3.45 (dd, J=17.05, 3.92 Гц, 1H), 3.88 (s, 3H), 4.59 (d, J=3.03 Гц, 2H), 4.96 (dd, J=10.36, 3.79 Гц, 1H), 5.90 (brs, 1H), 6.76 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.02 (d, J=6.82 Гц, 1H), 7.14 (dd, J=9.09, 2.78 Гц, 1H), 7.19 (td, J=8.34, 2.78 Гц, 1H), 7.62 (dd, J=8.59, 5.56 Гц, 1H), 7.68 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

МС (ES) [M+H] расч. для C₂₂H₂₂FN₆O₄, 453.16; эксп., 453.30.

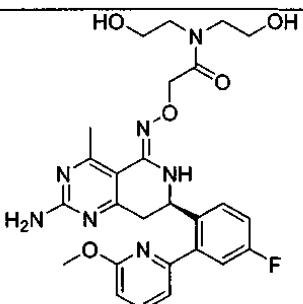
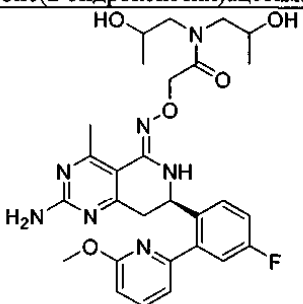
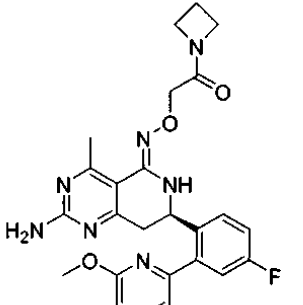
E. (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-1-морфолиноэтанон (соединение 102).

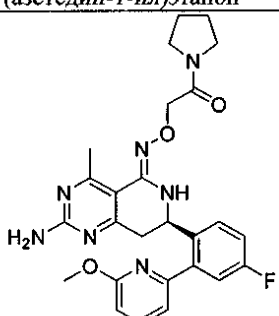
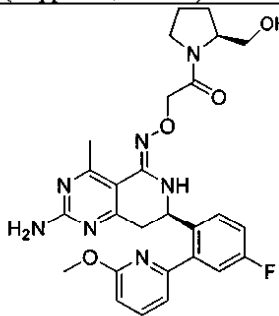
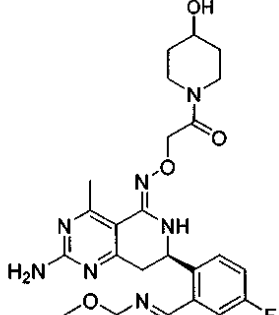
К раствору (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)уксусной кислоты (105d, 0.05 ммоль, 22.6 мг) в ДМФ (0.5 мл) добавляли ГБТУ (0.075 ммоль, 28 мг), Et₃N (0.125 ммоль, 17 мкл) и морфолин (0.1 ммоль, 8.3 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, анализ методом ЖХ/МС показал, что реакция завершена. Очищали методом препаративной ЖХ/МС с получением указанного в названии соединения (R,Z)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-илиденаминоокси)-1-морфолиноэтанола (102, 5.7 мг, 22%) в виде беловатого твердого вещества.

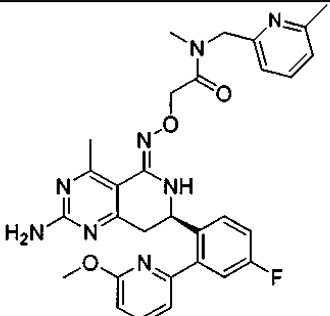
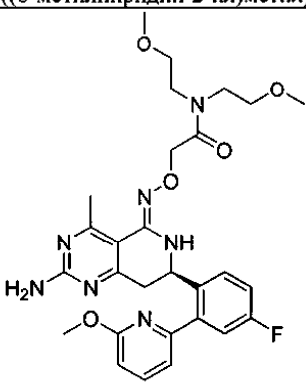
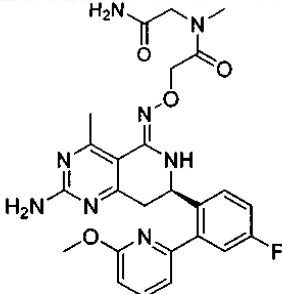
¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 2.83 (s, 3H), 3.15 (dd, J=17.31, 10.23 Гц, 2H), 3.43-3.51 (m, 2H), 3.63 (d, J=5.31 Гц, 2H), 3.65-3.71 (m, 4H), 3.89 (s, 3H), 4.71 (s, 2H), 4.97 (dd, J=10.36, 3.79 Гц, 1H), 5.96 (br. s., 1H), 6.77 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.03 (d, J=7.07 Гц, 1H), 7.14 (dd, J=9.35, 2.78 Гц, 1H), 7.19 (td, J=8.40, 2.65 Гц, 1H), 7.63 (dd, J=8.84, 5.56 Гц, 1H), 7.68 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

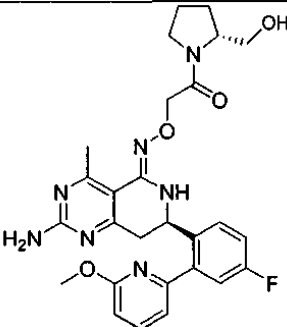
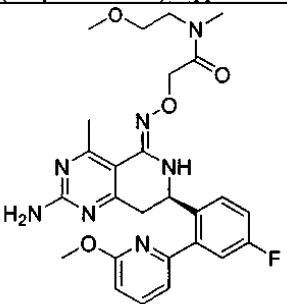
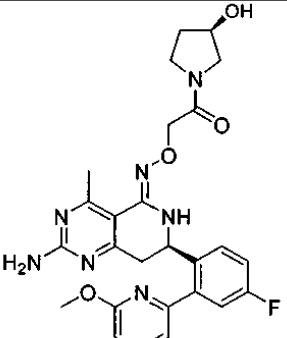
МС (ES) [M+H] расч. для C₂₆H₂₈FN₇O₄, 522.22; эксп., 522.00.

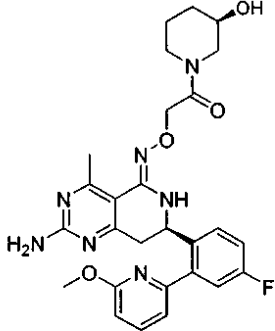
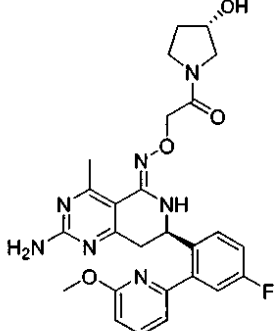
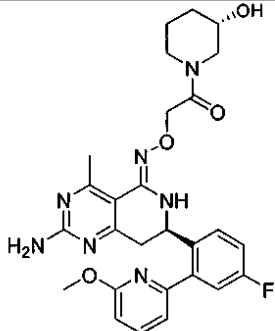
Схемы реакций, раскрытые в примерах выше, использовали для получения соединений, перечисленных в нижеследующей таблице.

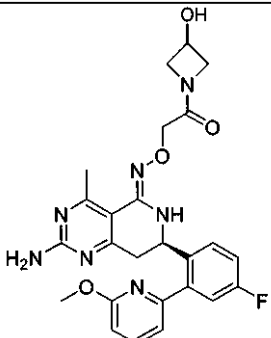
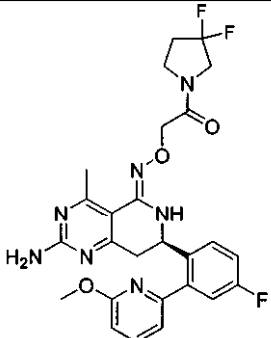
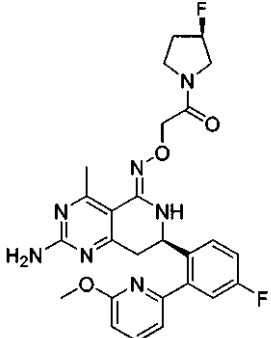
№ соединения	Структура и название	Молекулярная Масса	M+H (эксп.)
103	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N,N</i>-бис(2-гидроксиэтил)ацетамид</p>	539.6	540
104	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-<i>N,N</i>-бис(2-гидроксипропил)ацетамид</p>	539.6567.6	568
105	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(азетидин-1-ил)ацетамид</p>	491.5	492

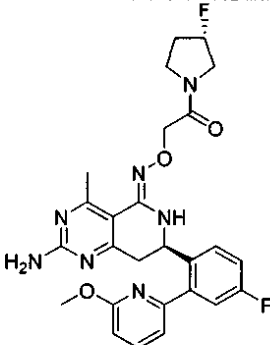
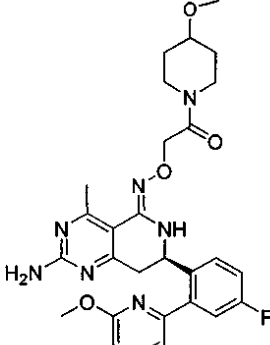
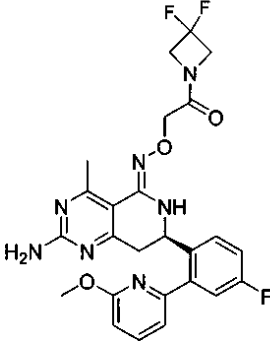
106	<p>(азетедин-1-ил)этанон</p>  <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(пирролидин-1-ил)этанон</p>	505.5	506
107	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((<i>S</i>)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536
108	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(4-гидроксипиперидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536

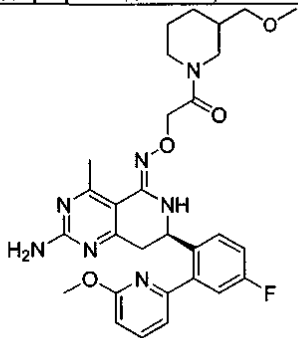
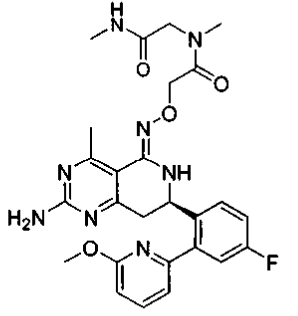
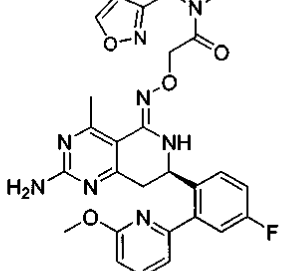
109	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-метил-<i>N</i>-((6-метилпиридин-2-ил)метил)ацетамид</p>	570.6	571
110	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N,N</i>-бис(2-метоксизтил)ацетамид</p>	567.6	568
111	 <p>(<i>R,Z</i>)-<i>N</i>-(2-амино-2-оксозтил)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-метилацетамид</p>	522.5	523

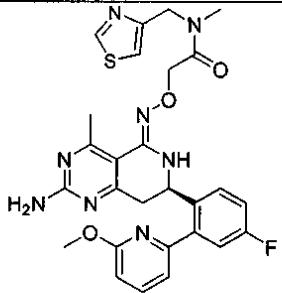
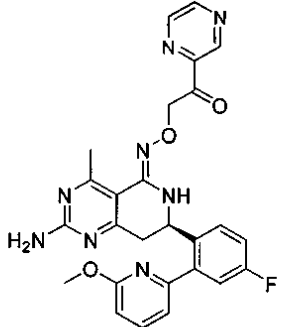
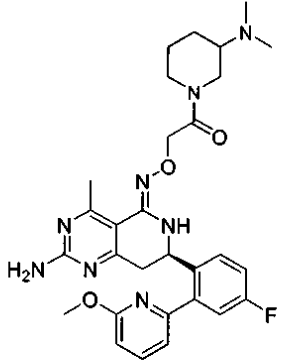
112	 <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536
113	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-(2-метоксиэтил)-<i>N</i>-метилацетамид</p>	523.6	524
114	 <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)этанон</p>	521.5	522

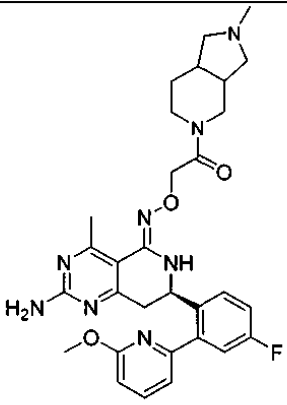
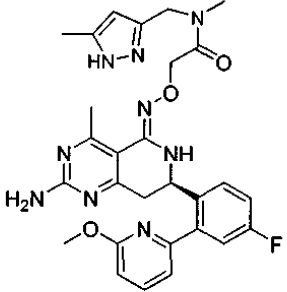
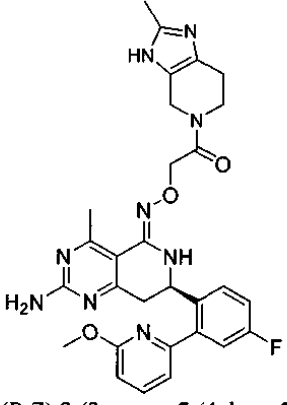
115	 <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((R)-3-гидроксипиперидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536
116	 <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((S)-3-гидроксипирролидин-1-ил)этанон</p>	521.5	522
117	 <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((S)-3-гидроксипиперидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536

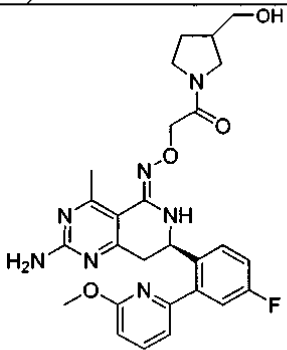
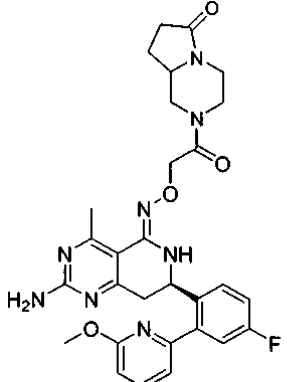
118	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(3-гидроксизетедин-1-ил)этанол</p>	507.5	508
119	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(3,3-дифторпирролидин-1-ил)этанол</p>	541.5	542
120	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((<i>R</i>)-3-фторпирролидин-1-ил)этанол</p>	523.5	524

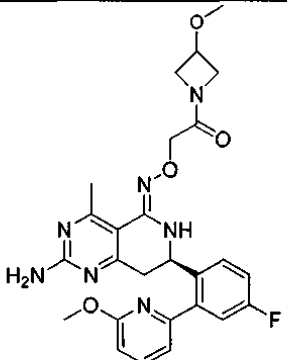
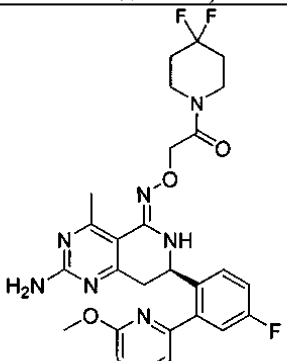
121	<p>фторпирролидин-1-ил)этанон</p>  <p>2-((Z)-((R)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-((S)-3-фторпирролидин-1-ил)этанон</p>	523.5	524
122	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(4-метоксипиперидин-1-ил)этанон</p>	549.6	550
123	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-</p>	527.5	528

	<i>d</i>]пиримидин-5(6 <i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(3,3-дифторазетедин-1-ил)этанон		
124	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-(3-(метоксиметил)пиперидин-1-ил)этанон</p>	563.6	564
125	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-метил-<i>N</i>-(2-(метиламино)-2-оксоэтил)ацетамид</p>	536.6	537
126	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-(изоксазол-3-илметил)-<i>N</i>-метилацетамид</p>	546.6	547

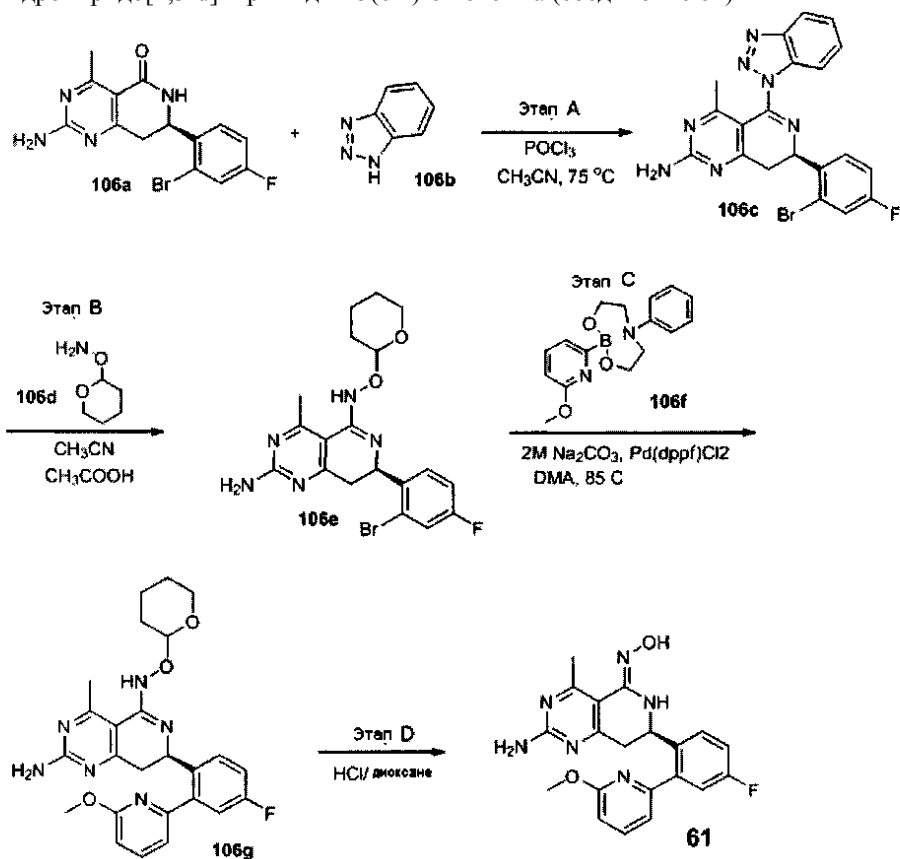
127	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-метил-<i>N</i>-(тиазол-4-илметил)ацетамид</p>	562.6	563
128	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(пиразин-2-ил)этанон</p>	557.6	558
129	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-(3-(диметиламино)пиперидин-1-ил)этанон</p>	562.6	563

130	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-(2-метилтетрагидро-1<i>H</i>-пирроло[3,4-<i>c</i>]пиридин-5(6<i>H</i>,7<i>H</i>,7<i>aH</i>)-ил)этанон</p>	574.6	575
131	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-<i>N</i>-метил-<i>N</i>-((5-метил-1<i>H</i>-пиразол-3-ил)метил)ацетамид</p>	559.6	560
132	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(2-метил-1<i>H</i>-пиразол-3-ил)этанон</p>	571.6	572

	<i>d</i>]пиримидин-5(6 <i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(2-метил-6,7-дигидро-3 <i>H</i> -имидазо[4,5- <i>c</i>]пиридин-5(4 <i>H</i>)-ил)этанон		
133	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)-1-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)этанон</p>	535.6	536
134	 <p>2-((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)ацетил)гексагидропирроло[1,2-<i>a</i>]пиазин-6(7<i>H</i>)-он</p>	574.6	575

135	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(3-метоксиазетедин-1-ил)этанон</p>	521.5	522
136	 <p>(<i>R,Z</i>)-2-(2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиденаминоокси)-1-(4,4-дифторпиперидин-1-ил)этанон</p>	555.6	556

Пример 106. Альтернативный синтез (*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6*H*)-он оксима (соединение 61)



Этап А. Синтез (R)-5-(1H-бензо[d][1,2,3]триазол-1-ил)-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (соединение 106с).

В двугорлую круглодонную колбу под слоем азота добавили (R)-2-амино-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он (106а, 1.00 г, 2.85 ммоль), 1H-бензо[d][1,2,3]триазол (106b, 0.678 г, 5.70 ммоль) и безводный ацетонитрил (14 мл). Фосфорил трихлорид (0.796 мл, 8.54 ммоль) медленно добавили к смеси и нагревали реакционную смесь в масляной ванне при 75°C в течение 18 ч. Анализ ЖХ/МС показал, что около 7-10% соединения 1 не прореагировало. Реакционную смесь концентрировали, затем разбавляли 80 мл этилацетата и полученную смесь медленно добавляли к 40 мл насыщенного бикарбоната натрия. Разделяли фазы. Водную фазу отмывали один или более раз 40 мл этилацетата. Органические фазы смешивали, промывали солевым раствором, сушили на сульфате натрия и концентрировали с получением желтоватого светло-коричневого твердого вещества, 1.72 г, содержащего около 0.37 г избытка бензотриазола. Сырой материал использовали на следующем этапе без очистки.

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{20}H_{15}BrFN_7$, 452; эксп., 452.3-454.3.

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.96 (s, 3H), 2.74 (dd, J=16.42, 14.91 Гц, 1H), 3.13 (dd, J=16.55, 4.17 Гц, 1H), 5.20 (dd, J=14.91, 4.04 Гц, 1H), 5.69 (s, 2H), 7.03-7.12 (m, 1H), 7.38 (dd, J=8.21, 2.65 Гц, 1H), 7.47-7.52 (m, 1H), 7.56-7.63 (m, 1H), 7.74 (dd, J=8.84, 6.06 Гц, 1H), 8.16 (d, J=9.35 Гц, 2H).

Этап В. Синтез (7R)-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-5-(тетрагидро-2H-пиран-2-илоксиамино)-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (соединение 106е).

(R)-5-(1H-бензо[d][1,2,3]триазол-1-ил)-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (1.13 г, 2.50 ммоль) и О-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)гидроксиламин (0.322 г, 2.75 ммоль) смешивали в 15 мл ацетонитрила. Затем добавляли уксусную кислоту (0.858 мл, 15.0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. На следующий день реакция завершалась, реакционную смесь концентрировали под вакуумом, а затем очищали путем флэш-хроматографии, SiO_2 , градиент 30-100% этилацетат/гексан. Получили 0.838 г соединения 5, 74.5% выход.

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{19}H_{21}BrFN_5O_2$, 450; эксп., 450.3-452.3.

1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 1.45-1.97 (m, 6H), 2.72 (s, 3H), 2.91 (ddd, J=16.17, 10.86, 7.83 Гц, 1H), 3.05-3.26 (m, 1H), 3.58-3.71 (m, 1H), 3.86-4.08 (m, 1H), 4.92-5.06 (m, 1H), 5.25 (dd, J=5.81, 2.27 Гц, 1H), 5.63 (d, J=4.04 Гц, 2H), 5.79-5.88 (d, J=36 Гц, 1H), 6.93-7.11 (m, J=16.07, 8.19, 8.19, 2.65 Гц, 1H), 7.28-7.34 (m, 1H), 7.35-7.44 (ddd, J=36 Гц, 1H).

Этап С. Синтез (7R)-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-5-(тетрагидро-2H-пиран-2-илоксиамино)-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (соединение 106g).

(7R)-7-(2-бром-4-фторфенил)-4-метил-5-(тетрагидро-2H-пиран-2-илоксиамино)-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (0.838 г, 1.86 ммоль), 2-(6-метоксипиридин-2-ил)-6-фенил-1,3,6,2-диоксаборокан (1.33 г, 4.47 ммоль), 2М раствор карбоната натрия (3.72 мл, 7.44 ммоль) смешивали в N,N-диметилацетамиде (12 мл), а затем через реакционную смесь пропыскали азот в течение 5 мин. Затем добавляли комплекс 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценеденхлор-палладий(II)-дихлорметан (0.136 г, 0.186 ммоль) и нагревали реакционную смесь в масляной бане при 85°C в течение ночи. На следующий день реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали солевым раствором (80 мл), сушили на сульфате натрия и концентрировали с получением неочищенного продукта, который затем очищали путем флэш-хроматографии, SiO_2 , градиент 20-100% этилацетат/гексан, с получением белого твердого вещества, содержащего 1.11 г продукта, загрязненного примесью с массой 182 (побочный продукт боронового эфира, соединение 6).

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{25}H_{27}FN_6O_3$, 479; эксп., 479.4.

Этап D. Синтез (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он оксима (соединение 61).

(7R)-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-5-(тетрагидро-2H-пиран-2-илоксиамино)-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-2-амин (0.891 г, 1.86 ммоль) растворяли в 10 мл диоксана. Затем к указанному перемешиваемому раствору медленно добавляли 4М HCl в диоксане (1.86 мл, 7.45 ммоль). После окончания добавления HCl на дне реакционной колбы образовалось желтое твердое вещество. Снятие защиты осуществляли в течение 30 мин, после чего надосадочную жидкость декантировали. Дихлорметан добавили для промывки твердого вещества, а затем декантировали. Этот процесс повторяли несколько раз. В смывах диоксаном и дихлорметаном продукта обнаружено не было. Твердый продукт затем очищали на колонке для флэш-хроматографии, SiO_2 , градиент 2-15% метанол/хлороформ с получением 0.404 г продукта, 63.5% выход в 2 этапа.

МС (ES) [M+H] расч. для $C_{20}H_{19}FN_6O_2$, 395; эксп., 395.3.

1H -ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 2.60 (s, 3H), 3.09-3.19 (m, 1H), 3.29-3.34 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 5.45 (br. s., 1H), 6.82 (d, J=8.34 Гц, 1H), 7.16 (d, J=6.57 Гц, 1H), 7.19-7.30 (m, 2H), 7.55 (dd, J=8.59, 5.56 Гц, 1H), 7.79 (dd, J=8.34, 7.33 Гц, 1H).

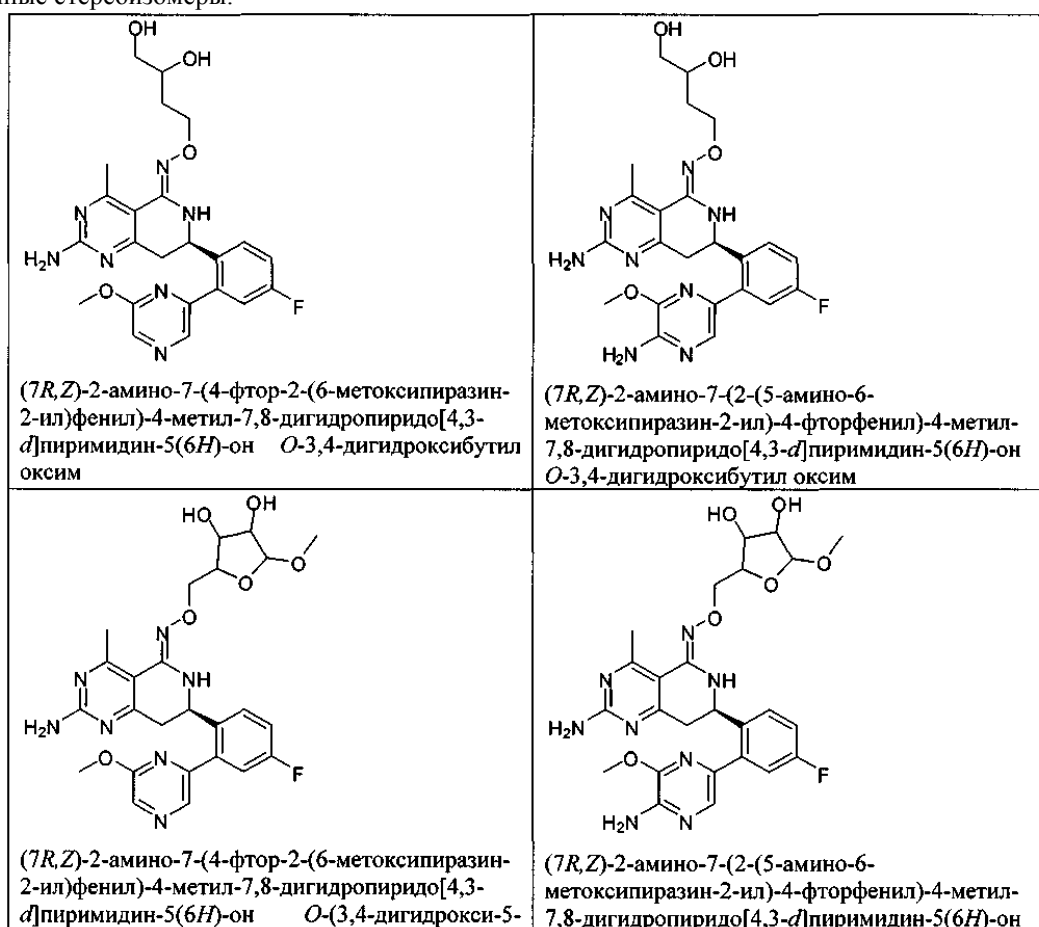
Пример 107. Получение (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6*H*)-он *O*-(S)-3,4-дигидроксибутил оксима бензоата, форма А.

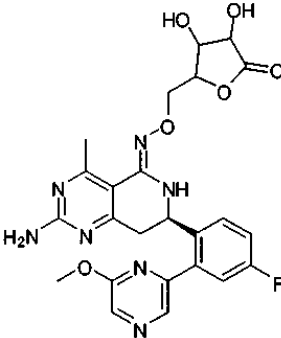
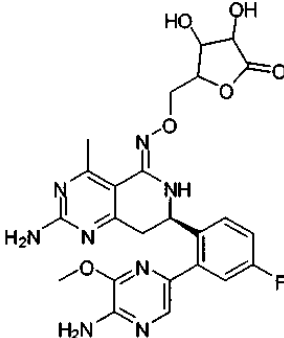
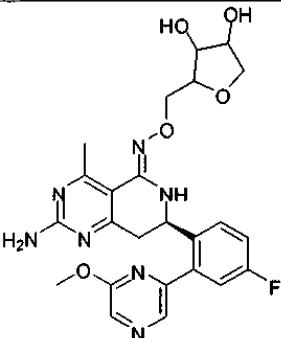
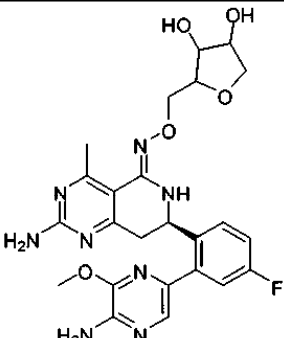
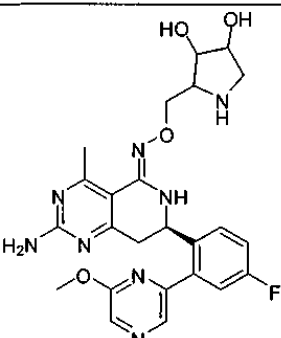
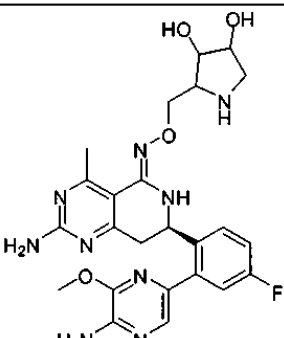
(R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиримидин-5(6*H*)-он *O*-(S)-3,4-дигидроксибутил оксим (соединение 37, 20 мг, белый порошок) взвешивали в реакционном сосуде, оборудованном магнитной мешалкой. Добавляли хлороформ и (5 мл) бензойную кислоту в 1,4-диоксане (340 мкл, 0.124 моль/л) и реакционную смесь охлаждали при 5°C. Растворитель выпаривали при мягкой продувке азотом с получением суспензии.

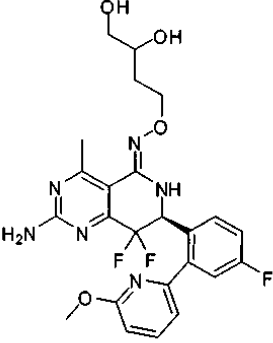
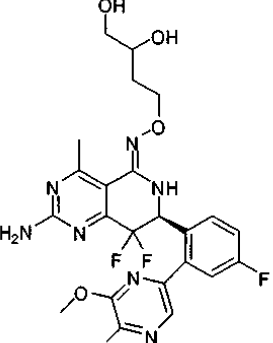
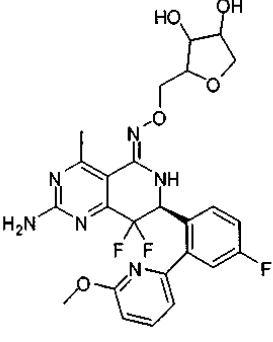
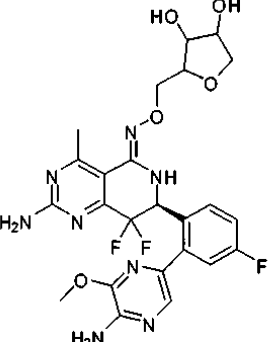
К остатку добавляли ацетон (2.5 мл). Смесь обрабатывали ультразвуком при комнатной температуре с получением раствора. Добавляли гептан (1 мл) и реакционную смесь охлаждали при 5°C. Растворитель выпаривали при мягкой продувке азотом с получением твердого вещества.

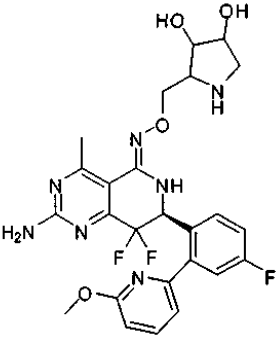
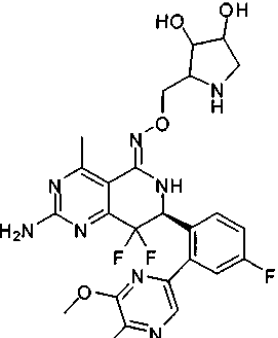
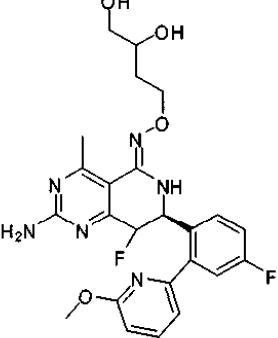
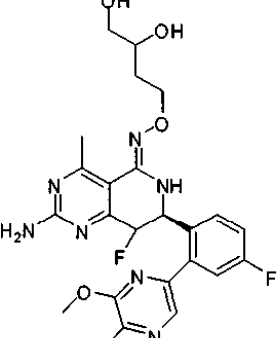
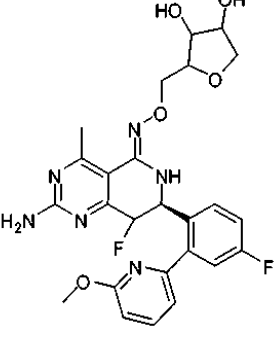
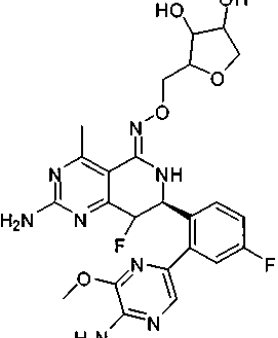
Твердый остаток исследовали методом рентгеновской дифрактометрии, дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) и термогравиметрии. На фиг. 2 показана порошковая дифрактограмма, которая содержит отчетливые линии, характеризующие кристаллический продукт. На фиг. 3 показана термограмма, полученная методом DSC, на которой видна эндотерма, начинающаяся при 128°C. Данной твердое вещество имеет точку плавления 128°C.

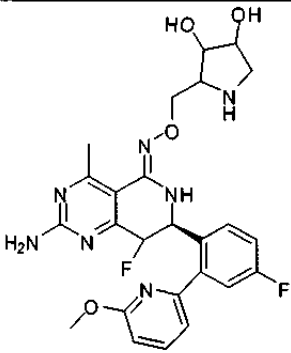
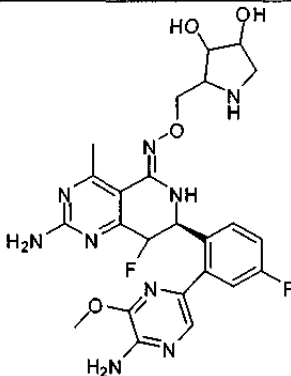
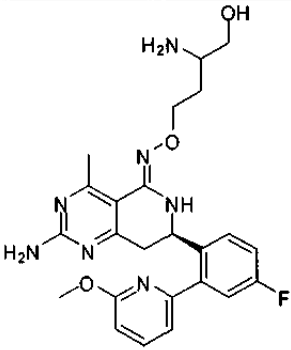
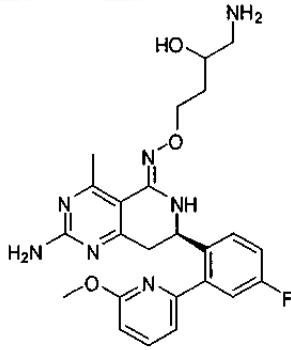
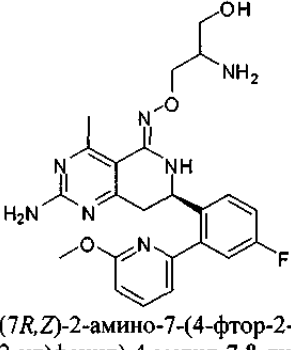
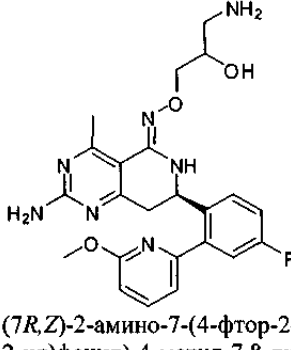
Кроме того, описанные выше схемы реакций и их варианты можно использовать для получения следующих соединений. Очевидно, что при упоминании какого-либо соединения подразумевают все различные стереоизомеры.



метокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим	<i>O</i> -(3,4-дигидрокси-5-метокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим
 <p>5-(((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиразин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)метил)-3,4-дигидроксидигидрофуран-2(3<i>H</i>)-он</p>	 <p>5-(((<i>Z</i>)-((<i>R</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-илиден)аминоокси)метил)-3,4-дигидроксидигидрофуран-2(3<i>H</i>)-он</p>
 <p>(7<i>R</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиразин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он</p>	 <p>(7<i>R</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он</p>
 <p>(7<i>R</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиразин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он</p>	 <p>(7<i>R</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он</p>

дигидроксипирролидин-2-ил)метил оксим	<i>O</i> -(3,4-дигидроксипирролидин-2-ил)метил оксим
 <p>(7<i>S</i>,<i>Z</i>)-2-амино-8,8-дифтор-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он 3,4-дигидроксibuтил оксим</p>	 <p>(7<i>S</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-8,8-дифтор-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он <i>O</i>-(3,4-дигидроксibuтил оксим</p>
 <p>(7<i>S</i>,<i>Z</i>)-2-амино-8,8-дифтор-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он (3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим</p>	 <p>(7<i>S</i>,<i>Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипиразин-2-ил)-4-фторфенил)-8,8-дифтор-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он <i>O</i>-(3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим</p>

 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-8,8-дифтор-7-(4-фтор-2-(6-метокси-<i>пиримидин-2-ил</i>)фенил)-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-(3,4-дигидрокси-<i>пирролин-2-ил</i>)метил оксим</p>	 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метокси-<i>пиразин-2-ил</i>)-4-фторфенил)-8,8-дифтор-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-(3,4-дигидрокси-<i>пирролин-2-ил</i>)метил оксим</p>
 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-8-фтор-7-(4-фтор-2-(6-метокси-<i>пиримидин-2-ил</i>)фенил)-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-3,4-дигидроксибутил оксим</p>	 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метокси-<i>пиразин-2-ил</i>)-4-фторфенил)-8-фтор-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-3,4-дигидроксибутил оксим</p>
 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-8-фтор-7-(4-фтор-2-(6-метокси-<i>пиримидин-2-ил</i>)фенил)-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-(3,4-дигидроокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим</p>	 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метокси-<i>пиразин-2-ил</i>)-4-фторфенил)-8-фтор-4-метил-7,8-дигидро-<i>пиридо</i>[4,3-<i>d</i>]<i>пиримидин-5(6H)-он</i> <i>O</i>-(3,4-дигидроокситетрагидрофуран-2-ил)метил оксим</p>

ОКСИМ	ил)метил оксим
 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-8-фтор-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-(3,4-дигидроксипирролидин-2-ил)метил оксим</p>	 <p>(7<i>S,Z</i>)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипирразин-2-ил)-4-фторфенил)-8-фтор-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-(3,4-дигидроксипирролидин-2-ил)метил оксим</p>
 <p>(7<i>R,Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-3-амино-4-гидроксibuтил оксим</p>	 <p>(7<i>R,Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-4-амино-3-гидроксibuтил оксим</p>
 <p>(7<i>R,Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-2-амино-3-гидроксипропил оксим</p>	 <p>(7<i>R,Z</i>)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-<i>d</i>]пиримидин-5(6<i>H</i>)-он O-3-амино-2-гидроксипропил оксим</p>

Пример А. Биологические тесты.

1. Тест на ферментативное связывания (поляризация флюоресценции) для ингибиторов HSP90.

а. Получение белка HSP90α.

В данном примере описано клонирование, экспрессия и очистка белка, содержащего N-концевой домен HSP90α. Следует отметить, что, как очевидно для специалиста, многие другие системы экспрессии и организмы-хозяева также подходят для экспрессии такого белка.

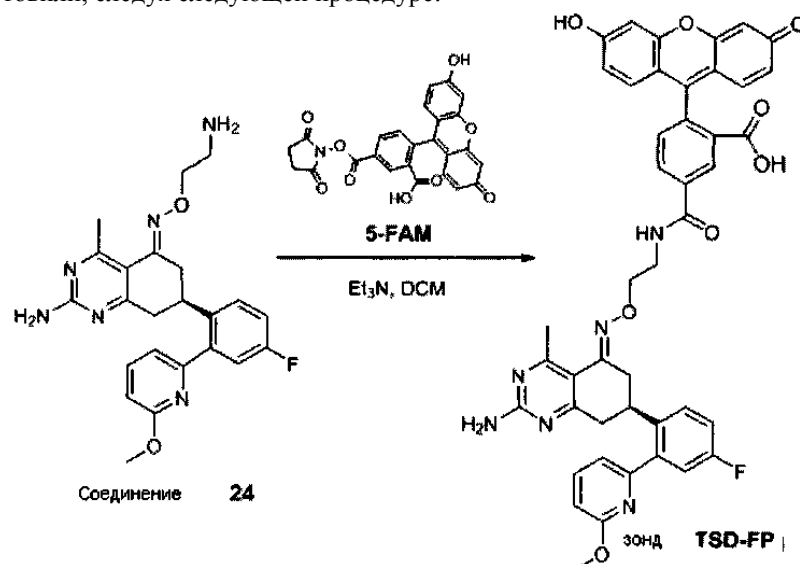
Последовательность человеческого HSP90α дикого типа хорошо известна в соответствующей области; см., Chen B. et al. Genomics, 2005, 86:627-637. Ген, кодирующий HSP90α, может быть выделен из библиотек РНК, кДНК или кДНК. В данном случае, изолировали ген, кодирующий остаток 9-236 точного клона 5270926 HSP90α (ATCC). Эту часть гена, кодирующую участок HSP90α человека, который включает N-концевой нуклеотид-связывающий домен HSP90α человека, клонировали в вектор pET28a (Novagen). Последовательности ДНК вектор представлена в списке последовательностей: SEQ ID NO: 1. Экспрессия этого вектора обеспечивала белок, состоящий из рекомбинантного N-концевого нуклеотид-связывающего домена HSP90α с отщепляемой меткой из 6 остатков гистидина и сайтом расщепления на

N-конце. Последовательность аминокислот рекомбинантного белка представлена как SEQ ID NO: 2.

Рекомбинантный N-концевой фрагмент His₆-HSP90α экспрессировали в E.coli (BL21) с индукцией IPTG. Суспензию клеток из 24×60 мл пробирок (выращенных в многопробирочном аэрируемом ферментере) лизировали с использованием автоматического устройства для лизирования образцов. Вкратце, остаток в каждой пробирке суспендировали в 21 мл лизирующего буфера, состоящего из 50 mM Tris с pH 7.9, 50 mM NaCl, 1 mM MgCb, 0.6 г/л лизоцима (Sigma) и 100 мкл/л бензоазы (Novagen). После добавления лизирующего буфера; пробирки обрабатывали ультразвуком в течение 75 с, а затем инкубировали в течение 20 мин. После инкубации, добавили 5 M NaCl, в результате чего получали конечную концентрацию соли, равную 400 mM. Пробирки обрабатывали ультразвуком в течение 50 с и центрифугировали при 3400 об/мин в течение 50 мин. Собирали надосадочную жидкость и добавляли 4 мл ProBond Ni resin (Invitrogen). Через по меньшей мере 30 мин, смолу отделяли центрифугированием, промывали 25 mM Tris с pH 7.6, содержащем 400 mM NaCl, 20 mM имидазола, вливали в колонку и промывали 10 объемами колонки того же буфера. Белок элюировали из колонки с использованием 3 объемов колонки 25 mM Tris pH 7.6, содержащего 400 mM NaCl, 400 mM имидазола. Элюат загружали на колонку Supedex 200 (GE Healthcare), уравнивали 25 mM Tris pH 7.6, содержащем 250 mM NaCl, 0.25 mM TCEP, 1 mM ЭДТА, собирали пиковые фракции и концентрировали до ~6 мг/мл с использованием центрифужного концентратора с молекулярным ситом на 10 кДа (Millipore). Аликвоты подвергали быстрой заморозке в жидком азоте и хранили при -80°C. Все процедуры очистки выполняли при 4°C.

b. Получение зонда поляризации флюоресценции.

Разрабатывали и синтезировали небольшие молекулы с флюоресцентной меткой в качестве зонда (TSD-FP зонда) для определения аффинности связывания тестируемого соединения с белками HSP90. Синтез небольшой молекулы, (S,E)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидрохиназолин-5(6H)-он O-2-аминоэтил оксима (соединение 24) описан выше в примерах 24 и 25. Зонд TSD-FP готовили, следуя следующей процедуре:



В сосуд на 4 мл, содержащий раствор соединения 24 (5 мг, 0.00908 ммоль, 1.0 экв.), в дихлорметане (0.6 мл) и триэтиламине (6.3 мкл, 0.0454 ммоль) добавили раствор (5-(2,5-диоксопирролидин-1-илокси)карбонил)-2-(6-гидрокси-3-оксо-3H-ксантен-9-ил)бензойной кислоты (5-FAM, 4.7 мг, 0.01 ммоль, 1.1 экв.) в дихлорметане (0.4 мл); смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакции, которое определяли путем ЖХ/МС, реакционную смесь разбавляли MeOH и очищали непосредственно путем препаративной ВЭЖХ с получением зонда TSD-FP в форме белого твердого вещества (6.8 мг, 75%).

ESI-MC: m/z 795.4 (M+H)⁺.

c. In vitro тестирование ферментативной активности ингибиторов HSP90.

Ингибирующее действие соединений согласно настоящему изобретению в отношении HSP90α определяли в тесте на поляризацию флюоресценции. Тесты проводили в черном 384-луночном планшете в буфере, содержащем 25 mM Hepes с pH 7.3, 150 mM NaCl, 0.1 mM ЭДТА, 0.01% Brij35, 1 mM DTT.

В каждую лунку для тестирования добавляли аликвоту буфера, 2 мкл тестируемого соединения 10% ДМСО, 4 мкл 6.25 нМ зонда TSD FP, 4 мкл 12.5 нМ очищенного белка HSP90α. В качестве положительного контроля использовали 1 мкМ гелданамицина (GM) вместо тестируемого соединения (GM в природном бензохиноном-ансамбином, о котором известно, что он связывается с N-концевым АТФ-связывающим карманом HSP90 и ингибирует связывание АТФ в АТФ-зависимые виды активности шаперонов). В качестве отрицательного контроля не добавляли ингибитора. Смеси для анализа инкубировали в течение 60 мин в течение ночи (960 мин). Интенсивность флюоресценции в смесях для анализа

(после 60 мин и инкубации в течение ночи) регистрировали на приборе Analyst HT (Molecular Devices) при длине волны возбуждения 485 нм и длине волны испускания 535 нм.

d. Расчет значений IC_{50} .

Значение IC_{50} может быть рассчитано путем нелинейной аппроксимации кривой концентраций соединения и сигналов FP стандартным уравнением IC_{50} , см., J. Kim et al. "Development of a Fluorescence Polarization Assay for the Molecular Chaperone Hsp90" J. Biomolecular Screening, 2004, 9(5).

Процентное ингибирование HSP90 при данной концентрации соединения определяется как

$$100\% \times [1 - (FP \text{ соединения} / FP \text{ "холостой"})],$$

где FP соединения - это наблюдаемая поляризованная флюоресценция при данной концентрации тестируемого соединения;

FP "хол." - это наблюдаемая поляризованная флюоресценция в присутствии только среды.

Значение pIC_{50} (отрицательный логарифм молярной концентрации соединения, которая обеспечивает 50% ингибирование) тестируемого соединения рассчитывают путем аппроксимации кривой нелинейным методом наименьших квадратов в соответствии с уравнением:

$$\text{Процентное ингибирование} = 100\% / (1 + (10^{-pIC_{50}} / 10 \log[I]))$$

кривой процентного ингибирования в зависимости от концентрации соединения. Концентрацию тестируемого соединения, обеспечивающую 50% ингибирование (IC_{50}), вычисляют путем возведения 10 в минус pIC_{50} степень ($10^{-pIC_{50}}$).

В качестве эталонных соединений тестировали известные ингибиторы HSP90, гелданамицин (GM) и 17 аллиламино, 17-деметоксигелданамицин 17-AAG). Результаты представлены в табл. 1. Следует отметить, что эти два ингибитора продемонстрировали зависимость связывания HSP90 от времени, которая необычна для низкомолекулярных ингибиторов согласно настоящему изобретению.

Таблица 1

Значения IC_{50} известных ингибиторов HSP90

Стандартные соединения	IC_{50} (нм) после инкубации в течение 1 часа	IC_{50} (нм) после инкубации в течение ночи
Гелданамицин	90	10
17-AAG	400	110

2. Анализ жизнеспособности клеток.

Опухолевые клетки линий BT-474, HT-29, K-562 и MKN-45 подготавливали в соответствии с инструкциями поставщиков (American Type Culture Collection, Rockville, MD или Human Science Research Resources Bank, Osaka, Япония). Клетки высевали в 96-луночные микропланшеты для культивирования тканей в концентрации 5,000-25,000 клеток на лунку и культивировали в течение 24 ч, после чего добавляли соединения или среду - ДМСО (диметилсульфоксид). Образец, в котором лунки обрабатывали только ДМСО, использовали в качестве отрицательного контроля, а образец, в котором клетки обрабатывали 17-AAG, использовали в качестве положительного контроля. После 72 ч обработки тестируемым соединением определяли превращение соли тетразолия MTS (Promega, Madison, WI, США) метаболически активными клетками путем измерения $OD_{490 \text{ нм}}$ на считывающем устройстве для микропланшетов Spectramax (Molecular Devices, San Diego, CA, США). Для получения кривых концентрация - ответ клетки обрабатывали в дубликатах рядом серийных разбавлений (конечная концентрация ДМСО составляла 0.5%). Процент жизнеспособных клеток определяли путем коррекции на фон и нормировки на лунки, обработанные ДМСО. Значения EC_{50} для ингибирования жизнеспособности клеток рассчитывали при помощи программного модуля XLfit4 Microsoft Excel.

3. Анализ индукции HSP70β.

Репортерный вектор H8P70β/β-галактозидаза был приобретен в Stressgen Bioreagents Corporation (Victoria, BC, Канада). Этот вектор временно трансфецировали в 2 млн клеток HeLa в чашках площадью 10 см^2 в соответствии с протоколом Stressgen с использованием реагента для трансфекции на основе липидов HeLaMONSTER (Mirus Bio Corporation, Madison, WI, США). Затем клетки последовательно высевали в 960-луночные планшеты в концентрации 20,000 клеток/лунку и после 24-часового восстановления вносили тестируемое соединение на 10 ч. Для получения кривых концентрация - ответ клетки обрабатывали в дубликатах рядом серийных разбавлений (конечная концентрация ДМСО составляла 0.5%). Для измерения активности Р-галактозидазы готовили лизаты с использованием системы Galacto-Star (Applied Biosystems, Bedford, MA, США). Регистрировали общую неинфракрасную люминесценцию на считывающем устройстве для планшетов EnVision (Perkin Elmer, Turku, Финляндия). Значения EC_{50} для индукции HSP70β/β-галактозидазы рассчитывали с использованием программного модуля для аппроксимации кривых XLfit4 Microsoft Excel. Образец, в котором клетки обрабатывали только ДМСО, использовали в качестве отрицательного контроля, а образец с 17-AAG использовали в качестве положительного контроля.

4. Анализ белка-клиента HSP90 HER-2 методом.

1 млн клеток SKOV3 (Американская коллекция типовых культур, Rockville, MD) высевали в лунки площадью 35 мм² в среде McCoy's 5A, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки. Через 24 ч после высевания клетки обрабатывали соединениями в 2,5-кратных серийных разбавлениях в ДМСО (конечная ДМСО составляла 0.5%). После 16 ч инкубации с тестируемым соединением готовили лизаты цельных клеток путем лизирования в 62.5 мМ Tris-HCl с pH 7, 1% додецилсульфата натрия, 10% глицерина. Белки разделяли путем электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия и переносили на мембраны из ПВДФ. Мембраны зондировали подходящими первичными антителами с последующей инкубацией со вторичными антителами, конъюгированными с красителем IRDye 680 или 800CW (Li-Cor, Lincoln, NE). HER-2/ERBB2 анализировали с использованием моноклональных антител (Cell Signaling Technologies, Danvers, MA). Уровни общего HSP70 анализировали с использованием моноклонального антитела мыши (Stressgen, Ann Arbor, MI). В качестве контроля нагрузки белков использовали PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток), детектирование осуществляли с использованием моноклонального антитела (Calbiochem, San Diego, CA). Блоты сканировали на приборе Odyssey (Li-Cor, Lincoln, NE), сигналы, соответствующие PCNA и HER-2/ERBB2 измеряли с использованием программного обеспечения Li-Cor. Значения для EC₅₀ снижение количества общего белка HER-2/ERBB2 получали путем аппроксимации кривой отношений общего сигнала HER-2/ERBB2 к сигналу PCNA в программе XLfit4 Microsoft Excel.

Пример В. Аффинность связывания соединений согласно настоящему изобретению с HSP90 in vitro HSP90.

Значения ферментативной активности соединений согласно настоящему изобретению в отношении HSP90 определяли с использованием метода, раскрытого в примере А-1. Соединения согласно настоящему изобретению являются ингибиторами HSP90; при этом значения IC₅₀ примеров соединений обычно составляют менее 1 мкМ и более типично менее 100 нм. Значения IC₅₀ выбранных соединений приведены в табл. 2.

Таблица 2
IC₅₀ примеров соединений в отношении HSP90

№ соединения	Аффинность связывания
	IC ₅₀ (нм)
33	4
35	13
37	6
40	10
45	10
58	5
59	8
61	3
65	10
75	10
78	4
79	6
83	8
85	4
93	8
96	13
99	8

Список последовательностей

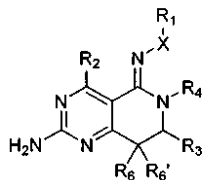
<110> ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ КОМПАНИ ЛИМИТЕД
 <120> ПРОИЗВОДНЫЕ ОКСИМА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ HSP90
 <130> HSP90-5003-US
 <140> 12/363,640
 <141> 2009-01-30
 <150> 61/025,725
 <151> 2008-02-01
 <160> 2
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 690
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Последовательность человеческой кДНК, кодированной остатками 9-236 человеческого HSP90
 (включий стартовый и терминирующий кодон)
 <400> 1
 atggaccaac cgatggagga ggaggagggt gagacgttcg cctttcaggc agaaattgcc 60
 cagttgatgt cattgatcat caatactttc tactcgaaca aagagatctt tctgagagag 120
 ctcatctcaa attcatacaga tgcattggac aaaatccggt atgaaagctt gacagatccc 180
 agtaaattag actctgggaa agagctgcat attaacctta taccgaacaa acaagatcga 240
 actctcacta ttgtggatac tggaaattgga atgaccaagg ctgacttggt caataacctt 300
 ggtactatcg ccaagtctgg gaccaaagcg ttcattggaag cttgagaggc tgggtgcagat 360
 atctctatga ttggccagtt cgggtgttgg ttttattctg cttatttggt tgctgagaaa 420
 gtaactgtga tcaccaaaaca taacgatgat gagcagtacg cttgggagtc ctacagcaggg 480
 ggatcattca cagtgaggac agacacaggt gaacctatgg gtcgtggaac aaaagttatc 540
 ctacacctga aagaagacca aactgagtac ttggagggaac gaagaataaa ggagattgtg 600
 aagaaacatt ctcaagttat tggatatccc attactcttt ttgtggagaa ggaacgtgat 660
 aaagaagtaa gcgatgatga ggctgaataa 690
 <210> 2
 <211> 249
 <212> Белок
 <213> Синтетическая последовательность
 <220>
 <223> 1- 21 = 6х-гистидиновая метка сайт-расщепления и метионин
 22-249 = Аминокислотная последовательность для остатков 9-236 человеческого HSP90a

<400> 2

Met Gly Ser Ser His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro
 1 5 10
 Arg Gly Ser His Met Asp Gln Pro Met Glu Glu Glu Glu Val Glu Thr
 20 25 30
 Phe Ala Phe Gln Ala Glu Ile Ala Gln Leu Met Ser Leu Ile Ile Asn
 35 40 45
 Thr Phe Tyr Ser Asn Lys Glu Ile Phe Leu Arg Glu Leu Ile Ser Asn
 50 55 60
 Ser Ser Asp Ala Leu Asp Lys Ile Arg Tyr Glu Ser Leu Thr Asp Pro
 65 70 75 80
 Ser Lys Leu Asp Ser Gly Lys Glu Leu His Ile Asn Leu Ile Pro Asn
 85 90 95
 Lys Gln Asp Arg Thr Leu Thr Ile Val Asp Thr Gly Ile Gly Met Thr
 100 105 110
 Lys Ala Asp Leu Val Asn Asn Leu Gly Thr Ile Ala Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Lys Ala Phe Met Glu Ala Leu Gln Ala Gly Ala Asp Ile Ser Met Ile
 130 135 140
 Gly Gln Phe Gly Val Gly Phe Tyr Ser Ala Tyr Leu Val Ala Glu Lys
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ile Thr Lys His Asn Asp Asp Glu Gln Tyr Ala Trp Glu
 165 170 175
 Ser Ser Ala Gly Gly Ser Phe Thr Val Arg Thr Asp Thr Gly Glu Pro
 180 185 190
 Met Gly Arg Gly Thr Lys Val Ile Leu His Leu Lys Glu Asp Gln Thr
 195 200 205
 Glu Tyr Leu Glu Glu Arg Arg Ile Lys Glu Ile Val Lys Lys His Ser
 210 215 220
 Gln Phe Ile Gly Tyr Pro Ile Thr Leu Phe Val Glu Lys Glu Arg Asp
 225 230 235 240
 Lys Glu Val Ser Asp Asp Glu Ala Glu
 245

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы



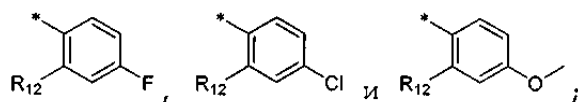
или его таутомер, стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль, где

X представляет собой O;

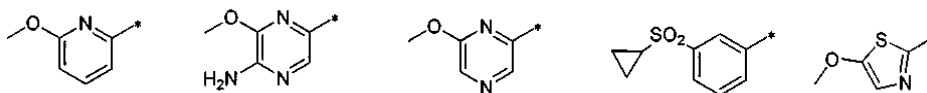
R₁ представляет собой -L-R₄₅;

R₂ выбран из группы, включающей водород и метил;

R₃ выбран из группы, включающей



R₁₂ выбран из группы, включающей



R_4 представляет собой водород;

R_6 и R_6' , оба, представляют собой водород;

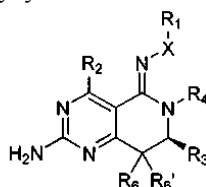
R_{45} выбран из группы, включающей водород, amino и гидроксил;

L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_n$;

n равно 1, 2, 3, 4 или 5;

R_{46} и R_{47} , каждый независимо, выбраны из группы, включающей водород, гидроксил, amino, (C_{1-6}) алкил и гидрокси (C_{1-6}) алкил.

2. Соединение по п.1, имеющее формулу



IVa

3. Соединение по п.1 или 2, в котором L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_5$.

4. Соединение по п.1 или 2, в котором L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_4$.

5. Соединение по п.1 или 2, в котором L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_3$.

6. Соединение по п.1 или 2, в котором L представляет собой $(-CR_{46}R_{47})_2$.

7. Соединение по п.1 или 2, в котором L представляет собой $-CR_{46}R_{47}$.

8. Соединение по п.1 или 2, в котором R_2 представляет собой водород.

9. Соединение по п.1 или 2, в котором R_2 представляет собой метил.

10. Соединение по п.1, выбранное из группы, включающей

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*R*)-2,3-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-2,3-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-3-гидрокси-2-(гидроксиметил)пропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*R*)-3,4-дигидроксипропил оксим;

(*7R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-3,4-дигидрокси-4-метилпентил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(3'-(циклопропилсульфонил)-5-фторбифенил-2-ил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-2,3-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*R*)-2-амино-3-гидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(2-(5-амино-6-метоксипирозин-2-ил)-4-фторфенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-3,4-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипирозин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-3,4-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(2-метокситиазол-4-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-3,4-дигидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-4,5-дигидроксипентил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-3-амино-2-гидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-3-гидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-4-гидроксипропил оксим;

(*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*R*)-4,5-дигидроксипентил оксим;

(*S,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*R*)-3,4-дигидроксипропил оксим.

11. Соединение по п.1, где соединение представляет собой (*R,Z*)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-*d*]пиридин-5(6H)-он *O*-(*S*)-3,4-

дигидроксипропил оксим.

12. Соединение по п.1, где соединение представляет собой (R,Z)-2-амино-7-(4-фтор-2-(6-метоксипиридин-2-ил)фенил)-4-метил-7,8-дигидропиридо[4,3-d]пиримидин-5(6H)-он O-(R)-2,3-дигидроксипропил оксим.

13. Соединение по любому из пп.1-12, где соединение имеет форму фармацевтически приемлемой соли.

14. Соединение по любому из пп.1-13, где соединение присутствует в виде смеси стереоизомеров.

15. Соединение по любому из пп.1-13, где соединение представляет собой единственный стереоизомер.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента соединение по любому из пп.1-15 и фармацевтический наполнитель.

17. Применение соединения по любому из пп.1-15 в качестве лекарственного средства для ингибирования HSP90.

18. Применение соединения по любому из пп.1-15 для лечения рака, воспаления, воспалительного заболевания кишечника, псориаза, артрита и отторжения трансплантата.

Последовательность кДНК человека, кодирующая остатки 9-236 HSP90α

человека

(включая старт-кодон и стоп-кодон)

[SEQ. ID NO: 1]

ATGGACCAAC	CGATGGAGGA	GGAGGAGGTT	GAGACGTTCTG	CCTTTCAGGC	AGAAATGGCC	60
CAGTTGATGT	CATTGATCAT	CAATACTTTC	TACTCGAACA	AAGAGATCTT	TCTGAGAGAG	120
CTCATTTCAA	ATTTCATCAGA	TGCATTGGAC	AAAATCCGGT	ATGAAAGCTT	GACAGATCCC	180
AGTAAATTAG	ACTCTGGGAA	AGAGCTGCAT	ATTAACCTTA	TACCGAACAA	ACAAGATCGA	240
ACTCTCACTA	TTGTGGATAC	TGGAATTGGA	ATGACCAAGG	CTGACTTGGT	CAATAACCTT	300
GGTACTATCG	CCAAGTCTGG	GACCAAGCG	TTCATGGAAG	CTTTCAGGC	TGGTGCAGAT	360
ATCTCTATGA	TTGGCCAGTT	CGGTGTTGGT	TTTTATTCTG	CTTATTGGT	TGCTGAGAAA	420
GTAACGTGA	TCACCAAACA	TAACGATGAT	GAGCAGTACG	CTTGGGAGTC	CTCAGCAGGG	480
GGATCATTC	CAGTGAGGAC	AGACACAGGT	GAACCTATGG	GTCTGGAAC	AAAAGTTATC	540
CTACACCTGA	AAGAAGACCA	AACTGAGTAC	TTGGAGGAAC	GAACAATAAA	GGAGATTGTG	600
AAGAAACATT	CTCAGTTTAT	TGGATATCCC	ATTACTCTTT	TTGTGGAGAA	GGAACGTGAT	660
AAAGAAGTAA	GCGATGATGA	GGCTGAATAA				690

Последовательность аминокислот для остатков 9-236 HSP90α человека

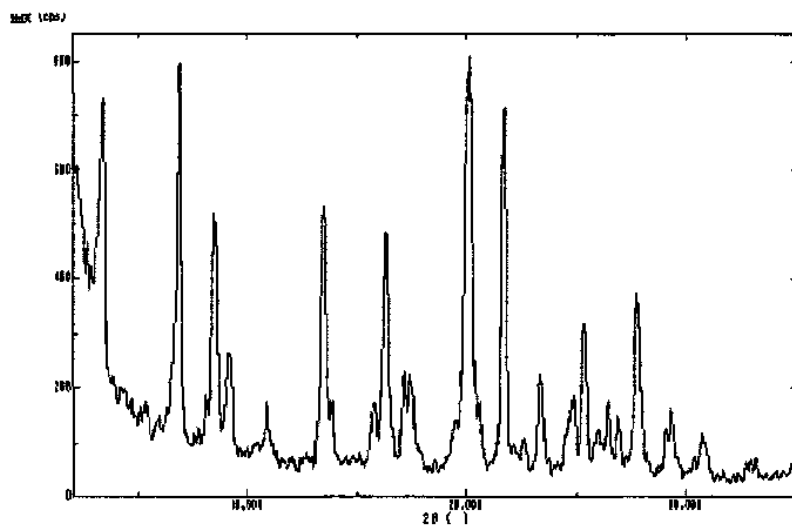
с N-концевой бх-гистидиновой меткой и сайтом расщепления

(подчеркнуты)

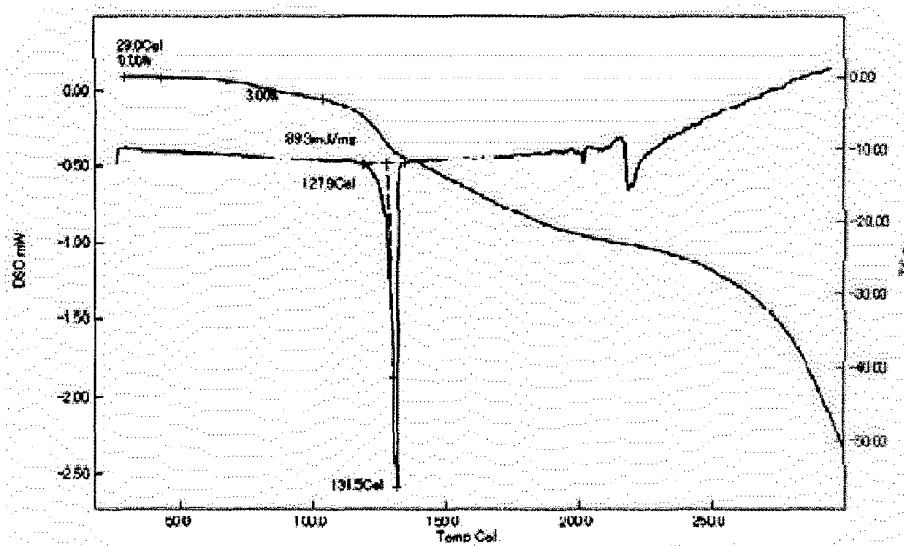
[SEQ. ID NO: 2]

<u>MGSSHHHHH</u>	<u>SSGLVPRGSH</u>	<u>MDQMEEEV</u>	<u>ETFAQAEIA</u>	<u>QLMSLIINTF</u>	<u>YSNKEIFLRE</u>	60
<u>LISNSSDALD</u>	<u>KIRYESLTDP</u>	<u>SKLDSGKELH</u>	<u>INLIPNKQDR</u>	<u>TLTIVDTGIG</u>	<u>MTKADLVNNL</u>	120
<u>GTIAKSGTKA</u>	<u>FMEALQAGAD</u>	<u>ISMIGQFGVG</u>	<u>FYSAYLVAEK</u>	<u>VTVITKHND</u>	<u>EQYAWESSAG</u>	180
<u>GSFTVTRDTG</u>	<u>EPMGRGTVKI</u>	<u>LHLKEDQTEY</u>	<u>LEERRIKEIV</u>	<u>KKHSQFIGYP</u>	<u>ITLFVEKERD</u>	240
<u>KEVSDDEAE</u>						

Фиг. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3