



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107753** (13) **C2**

(51) МПК (2015.01)

**C07D 471/10** (2006.01)

**C07D 519/00**

**A61K 31/438** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

**A61P 3/04** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

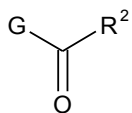
|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| (21) Номер заявки:  | <b>а 2013 11822</b>                      | (72) Винахідник(и):                                      | <b>Гріффіт Девід Ендрю (US),<br/>Дау Роберт Лі (US),<br/>Саутерс Джеймс Альфред Дж. (US),<br/>Едмондс Девід Джеймс (US)</b>  |
| (22) Дата подання заявки:   | <b>09.04.2012</b>                        | (73) Власник(и):   | <b>ПФАЙЗЕР ІНК.,<br/>235 East 42nd Street, New York, NY 10017,<br/>United States of America (US)</b>   |
| (24) Дата, з якої є чинними<br>права на винахід:  | <b>10.02.2015</b>                        | (74) Представник:  | <b>Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30</b>   |
| (31) Номер попередньої<br>заявки відповідно до<br>Паризької конвенції:                        | <b>61/478,240</b>                        | (56) Перелік документів, взятих до уваги<br>експертизою: | SCOTT W. BAGLEY ET AL: "Synthesis of 7-<br>Oxo-dihydrospiro[indazole-5,4'-piperidin e]<br>Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors", THE<br>JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol.<br>77, no. 3, 3 February 2012 (2012-02-03),<br>pages 1497-1506<br>WO 2012/042433 A1 (PFIZER [US]; DIDIUK<br>MARY THERESA [US]; DOW ROBERT LEE<br>[US]; GRIFFITH D), 05.04.2012<br>WO 2011/058474 A1 (PFIZER [US]; BAGLEY<br>SCOTT WILLIAM [US]; GRIFFITH DAVID<br>ANDREW [US]; KU), 19.05.2011<br>WO 2011/058473 A1 (PFIZER [US]; BAGLEY<br>SCOTT WILLIAM [US]; GRIFFITH DAVID<br>ANDREW [US]; KU), 19.05.2011<br>WO 2009/144554 A1 (PFIZER [US];<br>CORBETT JEFFREY WAYNE [US]; ELLIOTT<br>RICHARD LOUIS [US]), 03.12.2009<br>WO 2010/002010 A1 (BANYU PHARMA CO<br>LTD [JP]; JONA HIDEKI [JP]; SHIBATA<br>YOSHIHIRO [JP]; YA), 07.01.2010<br>EP 2123652 A1 (TAKEDA<br>PHARMACEUTICAL [JP]), 25.11.2009 |
| (32) Дата подання<br>попередньої заявки<br>відповідно до<br>Паризької конвенції:              | <b>22.04.2011</b>                        |  |  |
| (33) Код держави-учасниці<br>Паризької конвенції,<br>до якої подано<br>попередню заявку:      | <b>US</b>                                |  |  |
| (41) Публікація відомостей<br>про заявку:   | <b>25.12.2013, Бюл.№ 24</b>              |  |  |
| (46) Публікація відомостей<br>про видачу патенту:   | <b>10.02.2015, Бюл.№ 3</b>               |  |  |
| (86) Номер та дата<br>подання міжнародної<br>заявки, поданої<br>відповідно до<br>Договору РСТ | <b>PCT/IB2012/051732,<br/>09.04.2012</b> |  |  |

## (54) ЗАМІЩЕНІ ІНГІБІТОРИ АЦЕТИЛ-СоА КАРБОКСИЛАЗИ

### (57) Реферат:

Згідно з винаходом запропоновано сполуку формули (I)

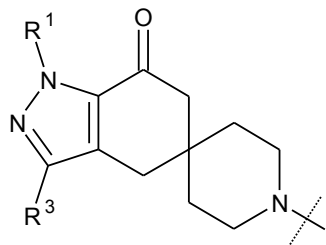
UA 107753 C2



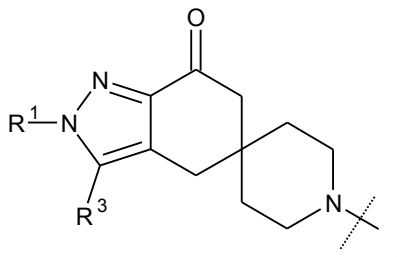
Формула (I)

або її фармацевтично прийнятну соль; де

G –



або



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> і R<sup>3</sup> такі, як тут описано;

її фармацевтичні композиції та застосування їх у лікуванні хвороб, станів або розладів, модульованих інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази у тварини.

Цей винахід стосується заміщених сполук піразолоспірокетону, які діють як інгібітори ацетил-КоА карбоксилази, та їх застосування в лікуванні хвороб, станів або розладів, модифікованих інгібуванням ферментів ацетил-КоА карбоксилази.

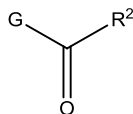
Ацетил-КоА карбоксилази (ACC) є сімейством ферментів, найдених у найбільшій кількості біотипів та пов'язаних із синтезом жирної кислоти та метаболізмом через каталіз отримання малоніл-КоА з ацетил-КоА. У ссавців ідентифіковано дві ізоформи ферменту ACC. ACC1, який експресовано на високих рівнях у ліпогенних тканинах, як-то жирові тканини та тканина печінки, контролює перший підданий етап у біосинтезі довголанцюгових жирних кислот. Якщо ацетил-КоА не карбоксиловано до форми малоніл-КоА, його метаболізовано через цикл Кребса. ACC2, другорядний компонент печінкової ACC, але переважна ізоформа в серцевому та скелетному м'язі, каталізує отримання малоніл-КоА на цитозольній поверхні мітохондрії та регулює стільки жирної кислоти скільки застосовано в  $\beta$ -окисненні інгібуванням карнітин-пальмітоїлтрансферази. Отже, постійне застосування інгібітору ACC (ACC-I) збільшенням утилізації жирної кислоти та попередженням збільшень знов у синтезі жирної кислоти також може спорожнювати печінку та запаси тригліцериду жирової тканини (TG) у суб'єктів, які страждають ожирінням, які споживали дієту з високим або низьким умістом жиру, що призводить до селективної втрати жиру організму.

Дослідження, проведені Abu-Etheiga, та інші, дозволяють уважати, що ACC2 грає істотну роль у контролюванні окиснення жирної кислоти, та це могло б забезпечити мету лікування проти ожиріння та пов'язаних з ожирінням хвороб, як-то діабет 2 типу. Дивись, Abu-Etheiga, L., та інші, "Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets" PNAS, 100(18) 10207-10212 (2003). Дивись також, Choi, C.S., та інші, "Continuous fat oxidation in acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice increases total energy expenditure, reduces fat mass, and improves insulin sensitivity" PNAS, 104(42) 16480-16485 (2007).

Стає яснішим, що накопичення печінкового ліпиду спричиняє резистентність печінки до інсуліну та сприяє патогенезу діабету 2 типу. Salvage, та інші, показали, що ACC1 та ACC2 залучено до регулювання окиснення жиру в гепатоцитах, тоді як ACC1, домігантна ізоформа в печінці щура, є єдиним регулятором синтезу жирної кислоти. Крім того, у цій моделі комбіноване відновлення обох ізоформ є необхідним для значно нижчих рівнів печінкового малоніл-КоА, збільшення окиснення жиру при харчуванні, зменшення накопичення ліпиду та поліпшення дії інсуліну *in vivo*. Отже, показано, що інгібітори печінкового ACC1 та ACC2 можуть бути корисними в лікуванні хвороби безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) та печінкової резистентності до інсуліну. Дивись, Savage, D.B., та інші, "Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2" J Clin Invest doi: 10.1172/JCI27300. Дивись також, Oh, W., та інші, "Glucose and fat metabolism in adipose tissue of acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice" PNAS, 102(5) 1384-1389 (2005).

Отже, існує потреба в медикаментах, які містять інгібітори ACC1 та/або ACC2, для лікування ожиріння та пов'язаних з ожирінням хвороб (як-то, NAFLD та діабет 2 типу) інгібуванням синтезу жирної кислоти та збільшенням окиснення жирної кислоти.

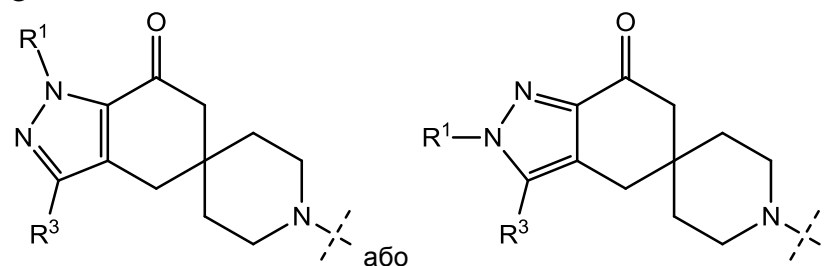
Перше втілення заявленого винаходу стосується сполук, які мають структуру сполуки формули А формули (I)



Формула (I)

або її фармацевтично прийнятної солі; де

G –



$R^1$  –  $(C_1-C_6)$ алкіл або  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл;  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл; де кожна група  $R^2$  необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ ,  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_1-C_3)$ алкоксил та галоген;  $R^3$  – гідроген або  $(C_1-C_3)$ алкіл; L – прямий

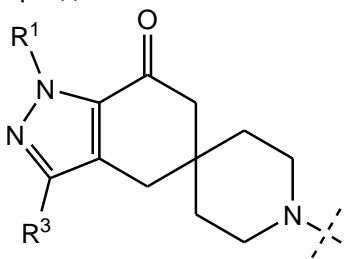
зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$ алкілен;  $X$  – прямий зв'язок,  $O$  або  $S$ ;  $R^4$  та  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген,  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_3-C_7)$ циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероциклі, де названий  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_3-C_7)$ циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероциклі, не обов'язково заміщений одним – трьома флуоро або  $(C_1-C_3)$ алкоксилами.

5 Друге втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, заміщений наступним: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$  або  $-L-NR^4R^5$ .

Третє втілення заявленого винаходу – сполука другого втілення або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, заміщений  $-L-C(O)NR^4R^5$  або  $-L-NR^4R^5$ ; та  $L$  – прямий зв'язок.

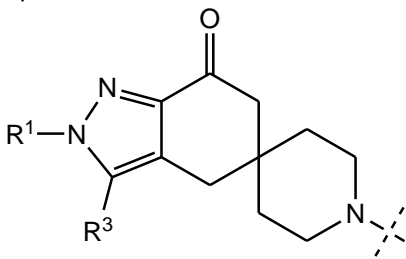
10 Четверте втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де  $R^1$  – ізопропіл, т-бутил або біцикл[1.1.1]пентаніл; або її фармацевтично прийнятна сіль. П'яте втілення заявленого винаходу – сполука будь-яких попередніх утілень, де  $R^3$  – гідроген; або її фармацевтично прийнятна сіль.

15 Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де  $G$  –



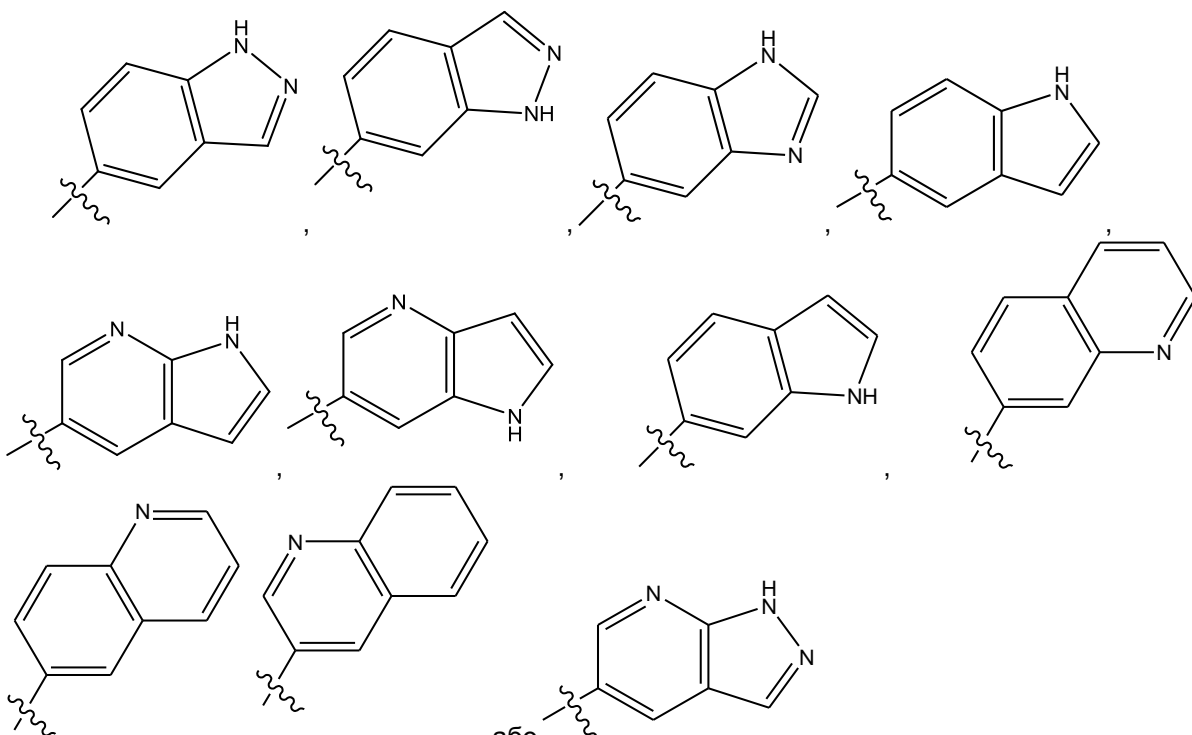
; або її фармацевтично прийнятна сіль.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де  $G$  –



; або її фармацевтично прийнятна сіль.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де  $R^2$  є

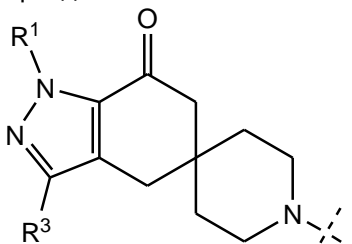


де кожна група  $R^2$  заміщено наступним: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ ; або її

фармацевтично прийнятна соль.

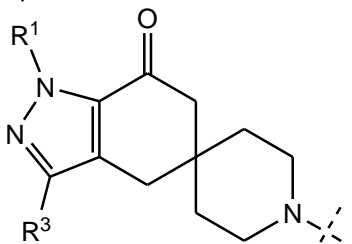
Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука або попереднє втілення, де  $R^2$  заміщено наступним: ціано,  $-C(O)NH_2$ ,  $-C(O)NHCH_3$ ,  $-C(O)NHCH_2CH_3$ ,  $-C(O)CH_2CF_3$ ,  $-OCH_2C(O)NH_2$ ;  $-NH_2$ ,  $-NHCH_3$  або  $-NHC(CH_3)_3$ ; або її фармацевтично прийнятна соль.

5 Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де G –



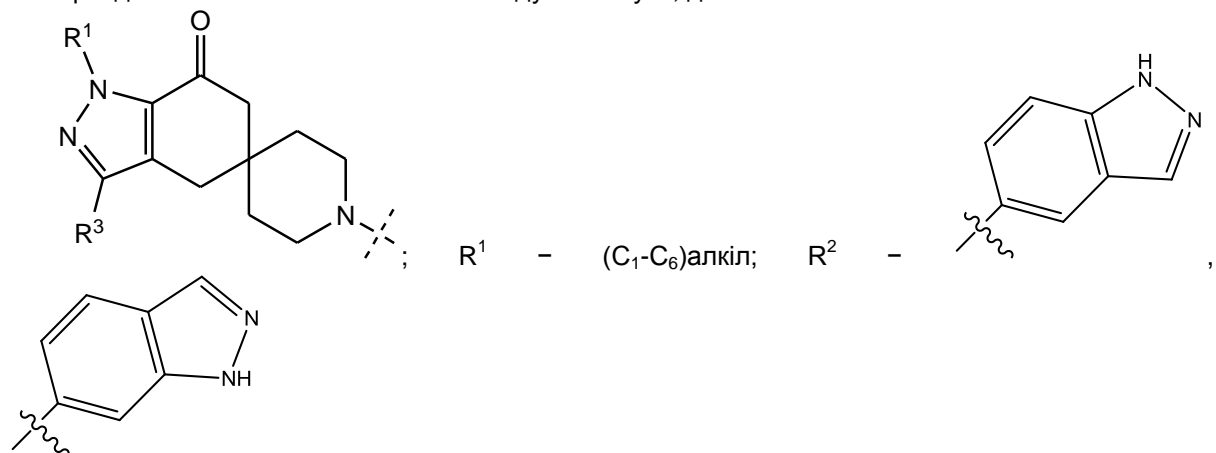
;  $R^1$  –  $(C_1-C_6)$  алкіл або  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл;  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, де кожна група  $R^2$  необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ ,  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_1-C_3)$  алкоксил та галоген;  $R^3$  – гідроген або  $(C_1-C_3)$  алкіл;  $L$  – прямий зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$  алкілен;  $X$  – прямий зв'язок, O або S; та  $R^4$  і  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген,  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл, де названий  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл необов'язково заміщений одним – трьома флуоро або  $(C_1-C_3)$  алкоксилами; або її фармацевтично прийнятна соль.

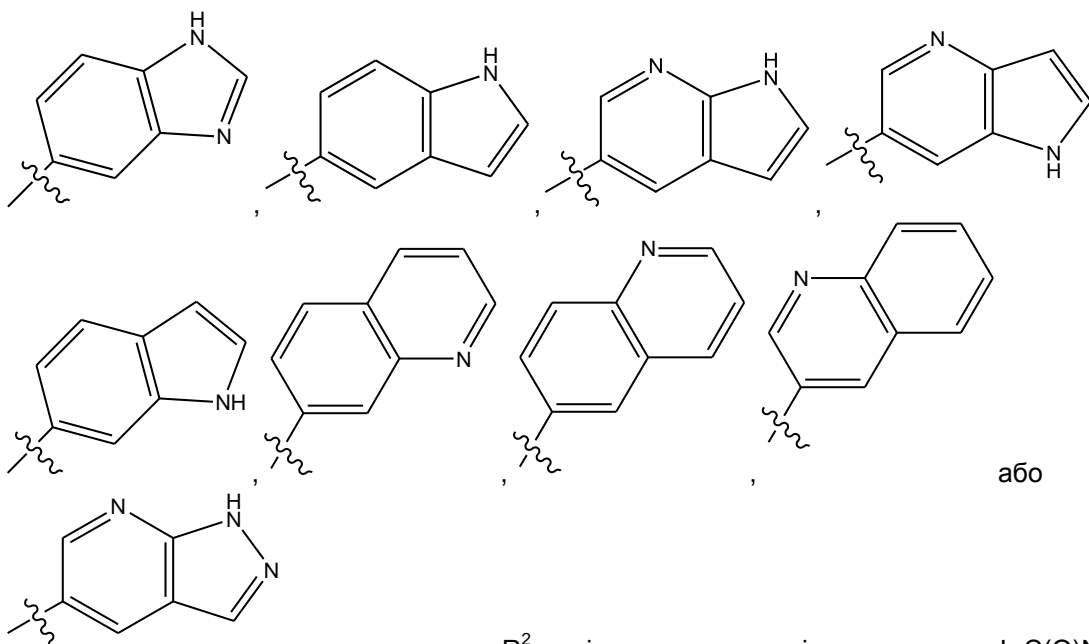
15 Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де G –



;  $R^1$  –  $(C_1-C_6)$  алкіл або  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл;  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, де кожна група  $R^2$  необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ ,  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_1-C_3)$  алкоксил та галоген;  $R^3$  – гідроген;  $L$  – прямий зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$  алкілен;  $X$  – прямий зв'язок, O або S; та  $R^4$  і  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген,  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл, де названий  $(C_1-C_3)$  алкіл,  $(C_3-C_7)$  циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл необов'язково заміщений одним – трьома флуоро або  $(C_1-C_3)$  алкоксилами; або її фармацевтично прийнятна соль.

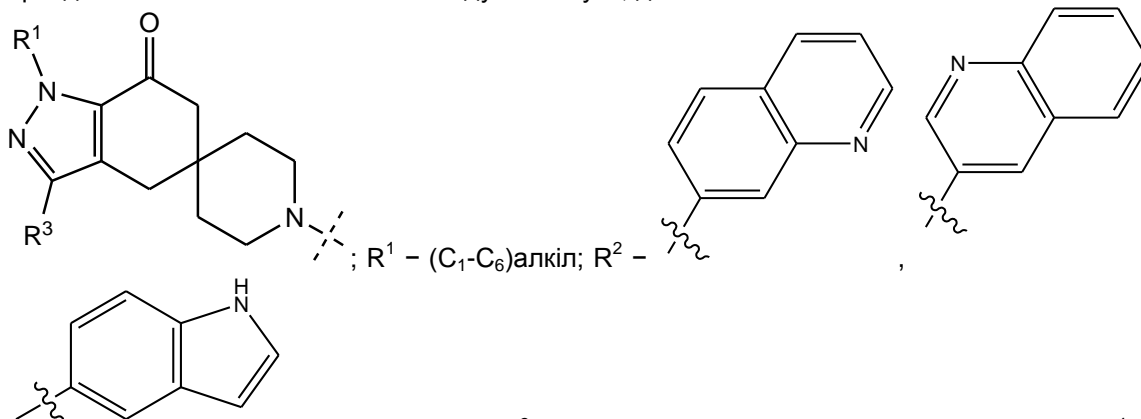
25 Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де G –





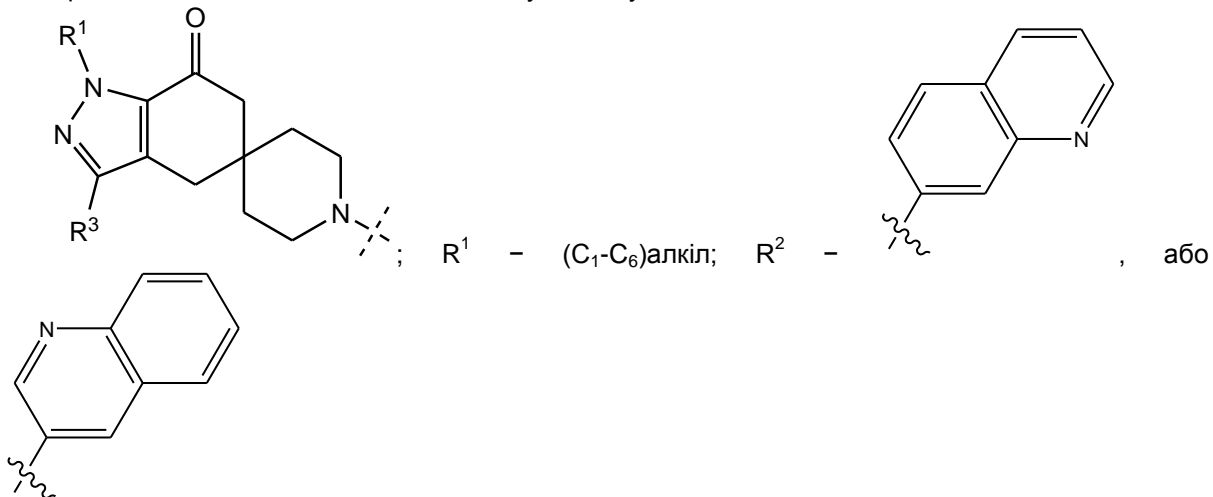
- 5 , де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, як-то  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ , або  $(C_1-C_3)$ алкоксил;  $R^3$  – гідроген; L – прямий зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$ алкілен; X – прямий зв'язок, O або S; та  $R^4$  і  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген або  $(C_1-C_3)$ алкіл; або її фармацевтично прийнятна соль.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де G –



- 10 або , де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, як-то  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ , або  $(C_1-C_3)$ алкоксил; L – прямий зв'язок; та  $R^4$  і  $R^5$  – гідрогени; або її фармацевтично прийнятна соль.

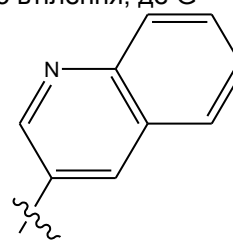
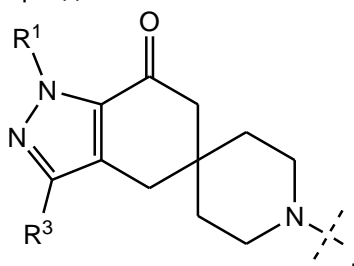
Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, де G –



, де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, як-то  $-L-NR^4R^5$  або  $(C_1-$

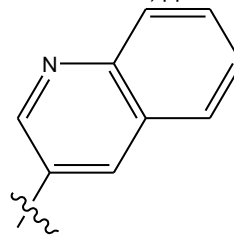
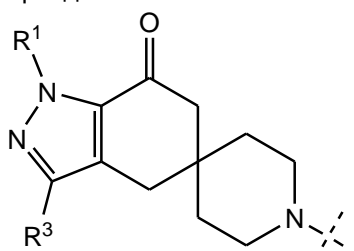
C<sub>3</sub>)алкоксил; L – прямий зв'язок; та R<sup>4</sup> і R<sup>5</sup> гідрогени; або її фармацевтично прийнятна соль.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



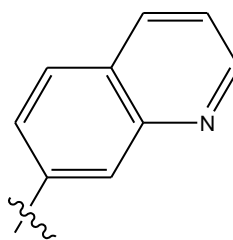
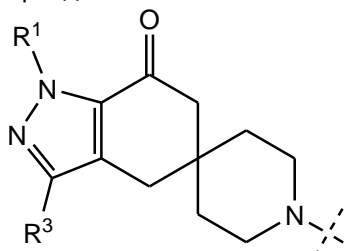
- 5 де R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл; R<sup>2</sup> – необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано, –L-C(O)NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, –L-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксил та галоген; R<sup>3</sup> – гідроген або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл; L – прямий зв'язок; та R<sup>4</sup> і R<sup>5</sup> кожна незалежно є наступним: гідроген або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



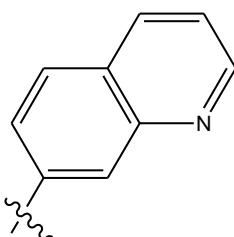
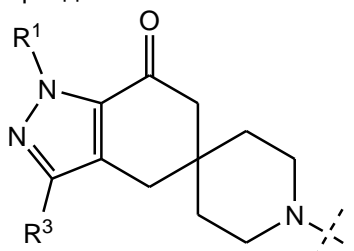
- 10 де R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл; R<sup>2</sup> – заміщена одним замісником, вибраним з (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксилу; та R<sup>3</sup> – гідроген.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



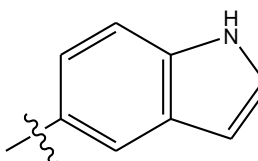
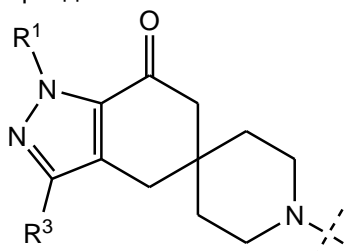
- 15 де R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл; R<sup>2</sup> – необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано, –L-C(O)NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, –L-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксил та галоген; R<sup>3</sup> – гідроген або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл; L – прямий зв'язок; та R<sup>4</sup> і R<sup>5</sup> кожна незалежно є наступним: гідроген або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



- 20 де R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл; R<sup>2</sup> – заміщена одним замісником, вибраним з наступного: –L-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>; R<sup>3</sup> – гідроген; L – прямий зв'язок; та кожна R<sup>4</sup> і R<sup>5</sup> – гідроген.

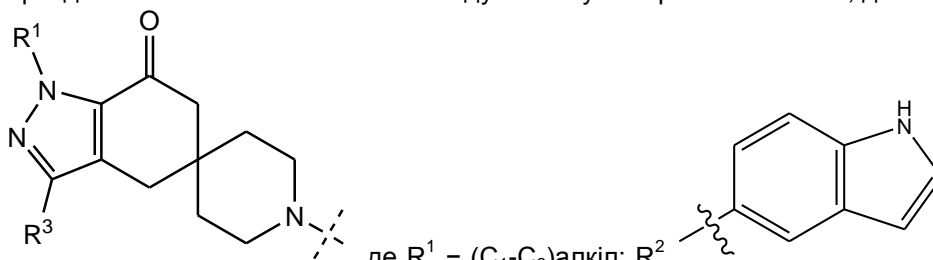
Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



- 20 де R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл; R<sup>2</sup> – необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано, –L-C(O)NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, –L-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксил та галоген; R<sup>3</sup> – гідроген або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл; L –

прямий зв'язок; та  $R^4$  і  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген або  $(C_1-C_3)$ алкіл.

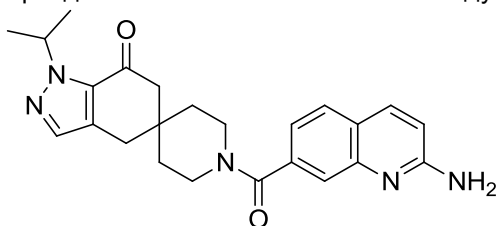
Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука першого втілення, де G –



де  $R^1$  –  $(C_1-C_6)$ алкіл;  $R^2$  – заміщена одним замісником, вибраним з наступного:  $-L-C(O)NR^4R^5$ ;  $R^3$  – гідроген; L – прямий зв'язок; та кожна  $R^4$  і  $R^5$  – гідроген.

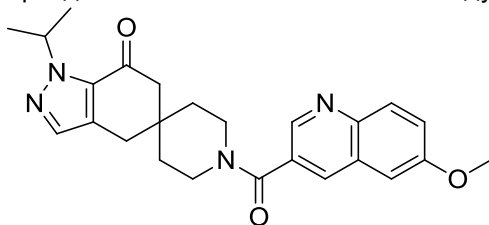
5

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука структури



або її фармацевтично прийнятна соль.

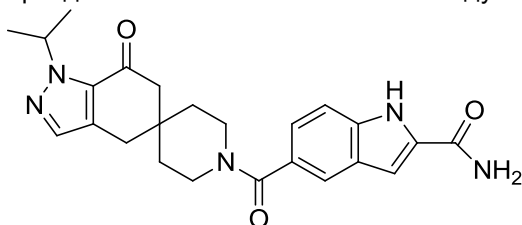
Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука структури



10

або її фармацевтично прийнятна соль.

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука структури



або її фармацевтично прийнятна соль.

15

Ще одне втілення заявленого винаходу – сполука, вибрана з наступного: 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-3-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід; 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбоксамід; 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-3-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-2-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-3-карбоксамід; 1'-[(2-аміно-1H-бензімідазол-5-іл)карбоніл]-1-ізопропіл-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1H-індазол-3-карбоксамід; N-етил-5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2,2,2-трифлуороетил)-1H-індазол-3-карбоксамід; 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-2-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піразоло[3,4-b]піридин-3-карбоксамід; 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-2-

30



[illegible]

карбоксамід; 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-ізопропіл-1Н-індазол-3-карбоксамід; 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-пропіл-1Н-індазол-3-карбоксамід; 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1Н-індол-3-карбоксамід; 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклобутил-1Н-індазол-3-карбоксамід; 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-оксетан-3-іл-1Н-індазол-3-карбоксамід; 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2-метоксиетил)-1Н-індол-3-карбоксамід; 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1Н-індол-3-карбоксамід; 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-етил-1Н-індол-3-карбоксамід; та 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1Н-індол-3-карбоксамід; або її фармацевтично прийнятна соль.

Ще один аспект заявленого винаходу – фармацевтична композиція, яка містить кількість сполуки формули (I), яку описано у будь-якому зі втілень; або її фармацевтично прийнятна соль та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач, або носій. Переважно композиція містить терапевтично ефективну кількість сполуки заявленого винаходу. Композиція також може містити, принаймні, один додатковий фармацевтичний засіб. Переважні засоби містять антидіабетичні засоби та/або засоби проти ожиріння.

Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу – спосіб лікування хвороби, стану, або розладу, опосередкований інгібуванням ферментів ацетил-СоА карбоксилази у ссавця, який охоплює етап застосування до ссавця, переважно до людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу, або її фармацевтично прийнятної солі або її фармацевтичної композиції.

Хвороби, розлади або стани, опосередковані інгібіторами ацетил-СоА карбоксилази, охоплюють діабет II типу та споріднені з діабетом хвороби, як-то хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD), печінкова резистентність до інсуліну, гіперглікемія, метаболічний синдром, послаблена толерантність до глюкози, діабетична невропатія, діабетична нефропатія, діабетична ретинопатія, ожиріння, дисліпідемія, гіпертонія, гіперінсулінемія та синдром резистентності до інсуліну. Переважні хвороби, розлади або стани охоплюють наступне: діабет II типу, хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD), печінкова резистентність до інсуліну, гіперглікемія, послаблена толерантність до глюкози, ожиріння та синдром резистентності до інсуліну. Більш переважними є діабет II типу, хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD), печінкова резистентність до інсуліну, гіперглікемія та ожиріння. Найбільш переважним є діабет II типу.

Передажним втіленням є спосіб лікування (наприклад, затримування розвитку або початку) діабету 2 типу та споріднених із діабетом розладів у тварин, який полягає в застосуванні до тварини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

Більш переважним втіленням є спосіб лікування або затримування розвитку, або початку діабету 2 типу та споріднених із діабетом розладів у людини, який полягає в застосуванні до людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу, або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

Найбільш переважним втіленням є спосіб лікування або затримування розвитку, або початку діабету 2 типу в людини, який полягає в застосуванні до людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу, або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

Ще одним переважним втіленням є спосіб лікування ожиріння та пов'язаних з ожирінням розладів у тварин, який полягає в застосуванні до тварини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

Ще одним переважним втіленням є спосіб лікування ожиріння та пов'язаних з ожирінням розладів у людини, який полягає в застосуванні до людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

Ще одним переважним втіленням є спосіб лікування хвороби безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) або печінкова резистентність до інсуліну у тварин, який полягає в застосуванні до тварини, конкретно людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки заявленого винаходу, або її фармацевтично прийнятної солі, або композиції.

Крім того, ще одним переважним втіленням є спосіб лікування хвороби безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) або печінкової резистентності до інсуліну в людини, який полягає в застосуванні до людини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу, або її фармацевтично прийнятної солі або композиції.

5 Сполуки заявленого винаходу можна застосовувати в комбінації з іншими фармацевтичними засобами (зокрема, засобами проти ожиріння та антидіабетичними засобами, описаними тут нижче). Комбіноване лікування можна застосовувати як (а) єдину фармацевтичну композицію яка містить сполуку заявленого винаходу, принаймні, один додатковий описаний тут фармацевтичний засіб та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач або носій; або 10 (b) дві окремі фармацевтичні композиції, які містять (i) першу композицію, яка містить сполуку заявленого винаходу та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач, або носій, та (ii) другу композицію, яка містить, принаймні, один додатковий описаний тут фармацевтичний засіб та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач або носій. Фармацевтичні композиції можна застосовувати одночасно або послідовно та в будь-якій послідовності.

15 Ще одне втілення – застосування сполуки заявленого винаходу у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази.

Ще одне втілення – застосування сполуки заявленого винаходу у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу, споріднені з діабетом розлади, хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) або печінкова резистентність до інсуліну.

Ще одне втілення – застосування сполуки заявленого винаходу у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу.

25 Ще одне втілення – застосування сполуки прикладу 6, 14, або 25 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу, споріднені з діабетом розлади, хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) або печінкова резистентність до інсуліну.

30 Ще одне втілення – застосування сполуки прикладу 6, 14, або 25 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу.

Ще одне втілення – застосування сполуки прикладу 6 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу.

35 Ще одне втілення – застосування сполуки прикладу 14 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу.

40 Ще одне втілення – застосування сполуки прикладу 25 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази, де хвороба, стан, або розлад – діабет 2 типу.

Вислів "терапевтично ефективна кількість" означає кількість сполуки заявленого винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, яка: (i) лікує або попереджує конкретну хворобу, стан, або розлад, (ii) пом'якшує, поліпшує або усуває один, або більше симптомів конкретної хвороби, стану або розладу, або (iii) попереджує або затримує появу одного або більше симптомів описаної тут конкретної хвороби, стану або розладу.

Термін "тварина" стосується людей (чоловіка або жінки), супутніх тварин (наприклад, собак, котів та коней), істотних тварин, тварин зоопарку, морських тварин, птахів та інших подібних видів тварин. "Істотні тварини" стосуються тварин як джерело їжі, як-то корови, свині, вівці та 50 домашні птахи.

Вислів "фармацевтично прийнятний" означає, що речовині або композиції слід бути хімічно та/або токсикологічно сумісними з іншими інгредієнтами, які мають склад, яким лікують ссавця.

Терміни "обробка", "лікувати", або "лікування" охоплюють превентивне, тобто, профілактичне та паліативне лікування.

55 Терміни "модульований" або "що модулює", або "модулювати", як тут застосовано, якщо не вказано інакше, стосується інгібування ферментів Ацетил-CoA карбоксилази (ACC) сполуками заявленого винаходу.

Терміни "опосередковано" або "що опосередковує" або "опосередковувати", як тут застосовано, якщо не вказано інакше, стосується (i) лікування або попередження конкретної 60 хвороби, стану або розладу, (ii) послаблення, поліпшення або усунення одного або більше

симптомів конкретної хвороби, стану або розладу, або (iii) попередження або затримування початку одного або більше симптомів описаної тут конкретної хвороби, стану або розладу інгібуванням ферментів Ацетил-CoA карбоксилаз (ACC).

Термін "сполуки заявленого винаходу" (якщо конкретно не ідентифіковано інакше) стосується сполук формули (I) та будь-яких фармацевтично прийнятних солей сполук, а також, усіх стереоізомерів (охоплюючи діастереоізомери та енантіомери), таутомери, конфірмаційні ізомери та мічені ізотопом сполуки. Гідрати та сольвати сполук заявленого винаходу розглянуто в композиціях заявленого винаходу, де сполука є в асоціації з водою або розчинником відповідно.

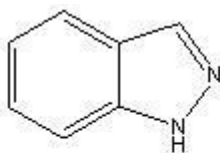
Терміни "(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл" та "(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл" – групи алкілу із заданою кількістю карбонів, від одного до шести або від одного до трьох карбонів, відповідно, які можуть бути прямоланцюговими або розгалуженими. Наприклад, термін "(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл" має від одного до трьох карбонів та складається з наступного: метил, етил, N-пропіл та ізопропіл. Групи алкоксилу із заданою кількістю карбонів названо аналогічно.

Термін "(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілен" – дворадикальні групи (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілу, що мають від одного до трьох карбонів, які можуть бути прямоланцюговими або розгалуженими. Типові приклади терміну "(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілен" охоплюють, але без обмеження, -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)-, або -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.

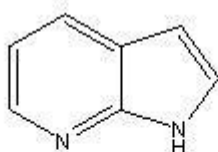
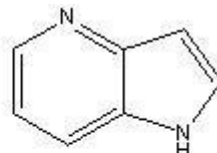
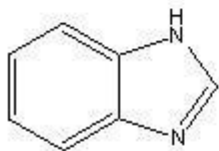
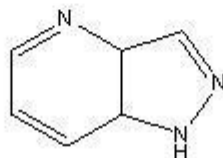
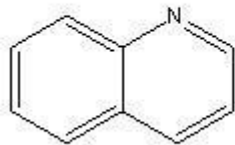
Термін "(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)циклоалкіл" означає групу циклоалкілу із трьома до семи атомів карбону, яка складається з наступного: циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил та циклогептил, або може бути біциклічною системою, як-то біцикло[1.1.1.]пентаніл. Термін "галоген" означає флуоро, хлоро, бромо або іодо.

Термін "чотири – семи-членний гетероцикліл" означає радикал чотири – семи-членного неароматичного гетероциклу. Місцем приєднання може бути атом карбону або атом нітрогену. Приклади цього, але без обмеження, охоплюють оксетаніл, тетрагідрофураніл, морфолініл, азетидиніл, піролодиніл, піперидиніл, піперазиніл та подібне.

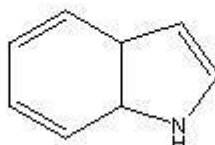
Терміни індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл – радикали показаних нижче груп, та місце приєднання – атом карбону цієї групи.



1H-індазол

1H-піроло[2,3-*b*]піридин1H-піроло[3,2-*b*]піридин1H-бензо[*d*]імідазол3*a*,7*a*-дигідро-1H-піразоло[4,3-*b*]піридин

хінолін



індол

В одному втіленні сполука формули (I) – сполука інгібітору N1 ACC, яка має наступну структуру:

Сполуки заявленого винаходу можна синтезувати шляхами синтезу, які добре відомі в рівні хімічної техніки, конкретно – згідно з наданим тут описом. Вихідні матеріали звичайно є в продажу від комерційних джерел, як-то Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) або їх легко отримати, застосовуючи способи, добре відомі спеціалісту в рівні техніки (наприклад, способи, звичайно описані в Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.), або Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, охоплюючи доповнення (також через доступну базу даних Beilstein-онлайн)).

Відображені нижче для ілюстрації схеми надають можливі шляхи реакцій синтезу сполук заявленого винаходу а також типових інтермедіатів. Більш детальний опис окремих етапів реакцій дивись нижче в розділі прикладів. Спеціалісту слід розуміти, що інші шляхи синтезу можна застосовувати для отримання сполук винаходу. Хоча конкретні вихідні матеріали та

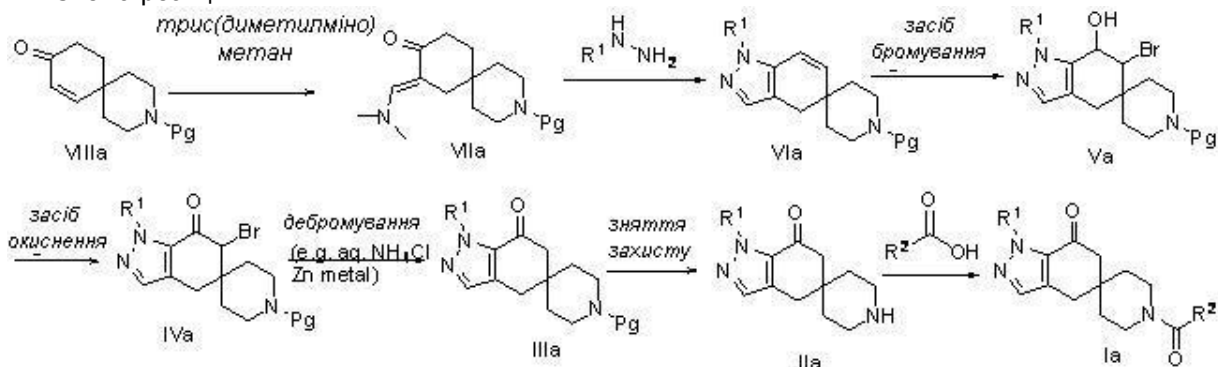
реагенти, які зображено в схемах та обговорено нижче, можна легко замінити іншими вихідними матеріалами та реагентами для отримання різноманітних похідних та/або умов реакції. Крім того, багато сполук, отриманих описаними нижче способами, можна далі модифікувати, зважаючи на це розкриття та застосовуючи звичайні хімічні способи, добре відомі спеціалісту в рівні техніки.

При отриманні сполук заявленого винаходу може бути потрібним захист віддаленої функціональності інтермедіатів (наприклад, первинного або вторинного аміну). Потреба щодо такого захисту залежить від природи віддаленої функціональності та умов способів отримання. Придатні захисні групи аміну (NH-Pg) охоплюють ацетил, трифлуороацетил, т-бутоксикарбоніл (BOC), бензилоксикарбоніл (CBz) та 9-флуоренілметиленоксикарбоніл (Fmoc). Подібно "захисні групи гідроксилу" стосуються заміснику гідроксилу, який блокує або захищає функцію гідроксилу. Придатні захисні групи гідроксилу (O-Pg) охоплюють наприклад, аліл, ацетил, силіл, бензил, пара-метоксибензил, тритіл та подібне. Потребу такого захисту легко визначить спеціаліст у рівні техніки. Загальний опис захисних груп та їх застосування, дивись в T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991.

Наступні схеми реакції, схеми реакції I – схеми реакції III, надають характерні способи, які застосовують для отримання сполук формули (I). Зрозуміло, що ці схеми реакції можна тлумачити необмеженими способами, та прийнятні варіанти зображених способів можна застосовувати для отримання сполук формули (I).

Схема реакції I накреслює загальні способи, які можна було б застосовувати для отримання сполук інгібітору N1 ACC заявленого винаходу, які мають формулу Ia, яка є сполукою формули (I), у якій R<sup>1</sup> – (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл або (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)циклоалкіл і R<sup>2</sup> – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, де кожна група R<sup>2</sup> необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано, –L-C(O)NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, –L-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксил та галоген; R<sup>3</sup> – гідроген; L – прямий зв'язок або –X(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілен; X – прямий зв'язок, O або S; та R<sup>4</sup> і R<sup>5</sup> кожна незалежно є наступним: гідроген, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл, де названий (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкіл, (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероцикліл, необов'язково заміщений одним – трьома флуоро або (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкоксилами.

Схема реакції I



Згідно зі схемою I сполуку VIIa можна отримати реакцією сполуки формули VIIIa, де Pg – придатна захисна група аміну, з трис(диметилміно)метаном у придатному розчиннику. Для отримання сполуки формули VIIa реакцію можна робити в придатному розчиннику, як-то толуол, при підвищеній температурі, як-то зворотний холодильник, протягом 1 – 24 год. Сполуку формули VIa можна отримати реакцією сполуки формули VIIa із придатним алкіл- або циклоалкіл-гідрaziном (R<sub>1</sub>NHNH<sub>2</sub>, як-то т-бутилгідразин, ізопропілгідразин або біцикл[1.1.1.]пентанілгідразин), у придатному розчиннику, як-то етанол. Наприклад, сполуку формули VIa можна отримати реакцією VIIa із придатним алкіл-гідрaziном (R<sub>1</sub>NHNH<sub>2</sub>,) необов'язково в присутності основи, як-то калій карбонат ("K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>"), в етанолі при дефлегмації для отримання бажаної циклічної сполуки, при температурі, приблизно, 20 °C – 80 °C протягом, приблизно, 2 – 24 год.

Сполуку формули Va можна отримати перетворенням сполуки формули VIa до відповідного похідного гідроксиброміду реакцією із придатним реагентом бромовання та водою в придатному розчиннику. Наприклад, сполуку формули Va можна отримати реакцією сполуки формули VIa з

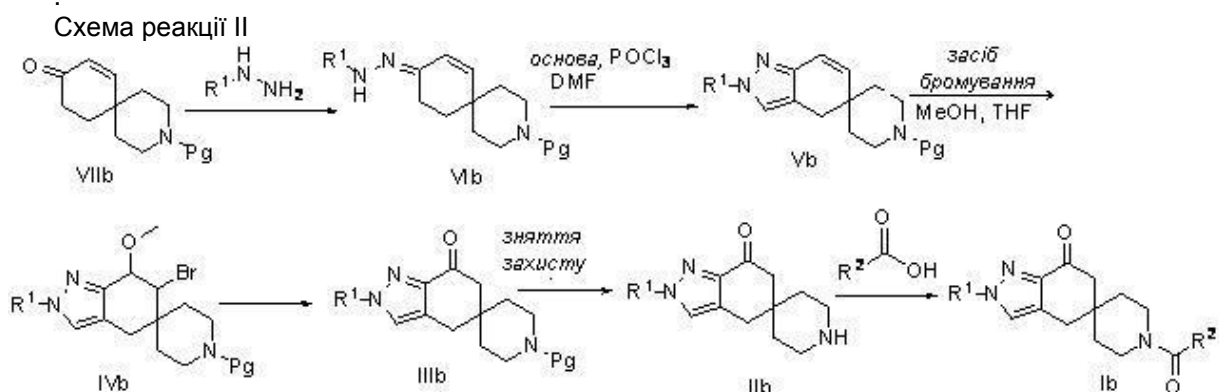
N-бромосукцинімідом (NBS) та водою в тетрагідрофурані при кімнатній температурі протягом 1 год. для отримання відповідного гідрокси-бromo-похідного формули Va. Тоді сполуку формули IVa можна утворити окисненням сполуки формули Va придатним засобом окиснення в придатному розчиннику. Наприклад, сполуку формули Va можна окиснювати обробкою

реагентом Джоунса при температурі від 0 °C до кімнатної температури протягом 15 хвил. до 4 год., а потім – екстракційна обробка. Тоді сполуку формули IVa можна дебромувати обробкою водним амоній хлоридом та металом цинком у придатному розчиннику, як-то тетрагідрофуран, протягом 15 хвил. до 4 год., типово – при кімнатній температурі.

Зі сполуки формули IIIa тоді можна зняти захист для отримання вільного похідного спіропіперидину формули IIa, застосовуючи стандартні способи, які залежать від застосованої захисної групи Pg. Наприклад, якщо Pg – BOC, можна застосовувати для видалення групи BOC звичайні умови зняття захисту в сильній кислоті, як-то 4N хлоридна кислота у діоксані або трифлуорооцтова кислота в придатному розчиннику, як-то дихлорометан. Якщо Pg – Cbz, для зняття захисту можна застосовувати гідрогенізацію через паладій на вугіллі в етанолі або обробку джерелом гідрогену, як-то амоній форміат або 1-метил-1,4-циклогексадієн, у присутності паладію на вугіллі в етанолі або етилацетаті.

Тоді похідне спіропіперидину формули IIa можна ацилювати застосуванням стандартних способів для отримання сполуки формули Ia. Тоді, наприклад, сполуку (Ia) можна створити, застосовуючи реакцію сполучення стандартного пептиду з бажаною карбоною кислотою ( $R^2CO_2H$ ). Наприклад, інтермедіат спіропіперидину (IIa) та карбонову кислоту ( $R^2CO_2H$ ) можна сполучати створенням активованого естеру карбонової кислоти, як-то зв'язуванням карбонової кислоти ( $R^2CO_2H$ ) зі сполучувальним реагентом пептидом, як-то O-(7-азобензотриазол-1-іл)-N, N,N',N'-тетраметилураніум гексафлуорофосфат ("HATU") або 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід гідрогенхлорид ("EDC·HCl"), у присутності або відсутності активувального засобу, як-то гідроксибензотриазол ("HOBT"), та у присутності придатної основи, як-то N, N-діізопропілетиламін ("DIEA"), триетиламін або N-метилморфолін ("NMM"), у придатному розчиннику, як-то ТГФ та/або ДМФ, диметилацетамід ("DMA") або дихлорометан, і тоді – зв'язування активованого естеру карбонової кислоти з похідним спіропіперидину IIa для створення сполуки формули Ia.

Схема реакції I накреслює загальні способи застосування для отримання сполуки інгібітору N2 ACC заявленого винаходу, які мають формулу Ib, у який  $R^1$  – ( $C_1$ - $C_6$ )алкіл або ( $C_3$ - $C_7$ )циклоалкіл, і  $R^2$  – індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, де кожна група  $R^2$  необов'язково заміщена одним – двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ , ( $C_1$ - $C_3$ )алкіл, ( $C_1$ - $C_3$ )алкоксил та галоген;  $R^3$  – гідроген; L – прямий зв'язок або  $-X(C_1$ - $C_3$ )алкілен; X – прямий зв'язок, O або S; та  $R^4$  і  $R^5$  кожна незалежно є наступним: гідроген, ( $C_1$ - $C_3$ )алкіл, ( $C_3$ - $C_7$ )циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероциклі, де названий ( $C_1$ - $C_3$ )алкіл, ( $C_3$ - $C_7$ )циклоалкіл або чотири – семи-членний гетероциклі, необов'язково заміщений одним – трьома флуоро або ( $C_1$ - $C_3$ )алкоксилами.

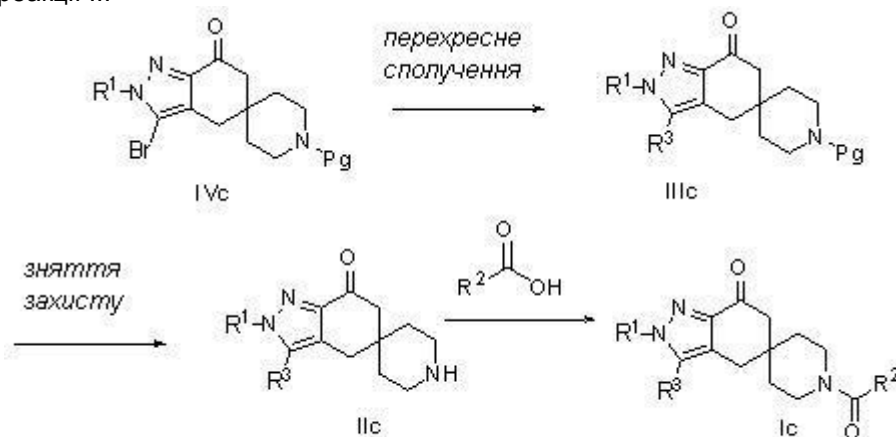


Згідно зі схемою II реакції сполуки формули VIIb із придатним похідним гідразину  $R^1-NHNH^2$  отримують сполуку формули VIb. Реакцію типово проводять у придатному розчиннику, як-то етанол при підвищеній температурі, як-то 60 °C, під зворотним холодильником протягом, приблизно, 1 – 48 год. для отримання сполуки формули VIb. Якщо похідне гідразину застосовано  $R^1-NHNH^2$  у формі адитивної солі відповідної кислоти, як-то сіль гідрогенхлориду, слід брати до уваги, що утворена сполука формули VIb також може існувати як сіль. Якщо

сполука формули VIb існує у формі солі, типово її обробляють придатною основою, як-то натрій гідрогенкарбонат, у придатному розчиннику, як-то дихлорометан, протягом від 15 хвил. до 4 год. при температурі навколишнього середовища до перетворення до сполуки формули Vb. Сполуку формули Vb утворено спочатку реакцією фосфорного оксихлориду з диіметилформамідом при 0 °C, тоді – додаванням сполуки формули VIb та циклізацією при підвищеній температурі, як-то 80 °C протягом 1 – 24 год. Тоді сполуку формули Vb перетворюють до відповідного метокси-бromo-похідного формули IVb реакцією із придатним засобом бромовання та метанолом у придатному розчиннику, як-то тетрагідрофуран. Наприклад, реакцією сполуки Vb з N-бромосукцинімідом у 20 % метанолі/тетрагідрофурані протягом від 30 хвил. до 4 год. при температурі навколишнього середовища можна отримати сполуку формули IVb. Обробка сполуки формули IVb придатною основою, як-то калій т-бутоксид, у придатному розчиннику, як-то тетрагідрофуран, протягом 15 хвил. – 2 год., а потім – підкислення придатною кислотою, як-то 2N хлоридна кислот, можна отримати сполуку формули IIIb. Зняття захисту сполуки формули IIIb, а потім – сполучення з кислотою R<sup>2</sup>CO<sub>2</sub>H способом, описаним раніше у схемі реакції I надає сполуку формули Ib.

Схема реакції III накреслює загальні способи застосування для отримання сполук інгібітору N2 ACC заявленого винаходу, які мають формулу Ic, у який R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> є такими як раніше, і R<sup>3</sup> – група алкілу.

Схема реакції III



Сполуку формули IIIc можна отримати каталізованим паладієм перехресним сполученням броміду формули IVc з алкіл- або алкеніл-трибутилстанатом, як-то метил-три-н-бутилстанат або вініл-три-н-бутилстанат, або аліл-три-н-бутилстанат, або три-алкіл-бороксин, як-то три-метил-бороксин або три вініл-бороксин, у присутності паладієвого каталізатору, як-то тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0), або в комбінації попереднього каталізатору та ліганду, як-то паладій(II)ацетат та 2-дициклогексилфосфіно-2',6'-диметоксибіфеніл("SPhos"), та в присутності або відсутності основи, як-то калій карбонат, у розчиннику, який містить протон, як-то етанол або т-аміловий спирт, або апротонному розчиннику, як-то тетрагідрофуран або диіметилформамід, при температурі, приблизно, 20 °C – 100 °C протягом, приблизно, 2 год. – 18 год. або при температурі, приблизно, 100 °C – 150 °C протягом, приблизно, 5 хвил. – 60 хвил. під мікрохвильовим нагріванням. Якщо алкеніл-триалкілстанат або алкеніл-бороксин застосовували для встановлення групи R<sup>3</sup>, відновлення отриманого олефіну можна досягати гідрогенізацію через паладій на вугіллі в етанолі або обробкою джерелом гідрогену, як-то амоній форміат або 1-метил-1,4-циклогексادیєн, у присутності паладію на вугіллі в етанолі або етилацетаті.

Тоді зі сполуки формули IIIc можна знімати захист для отримання вільного похідного спіропіперидину формули IIc, застосовуючи стандартні способи, які залежать від захисної групи Pg. Наприклад, якщо Pg – BOC, для видалення групи BOC можна застосовувати звичайні умови зняття захисту в сильній кислоті, як-то 4N хлоридна кислота в діоксані або трифлуорооцтова кислота в придатному розчиннику, як-то дихлорометан. Якщо Pg – Cbz, для зняття захисту можна застосовувати гідрогенізацію на паладії на вугіллі в етанолі або обробкою джерелом гідрогену, як-то амоній форміат або 1-метил-1,4-циклогексادیєн у присутності паладію на вугіллі в етанолі або етилацетаті.

Тоді похідне спіропіперидину формули IIc можна ацилювати, застосуванням стандартних способів отримання сполуки формули Ic. Наприклад, сполуку Ic тоді можна створювати,

застосовуючи стандартну реакцію сполучення пептиду з бажаною карбоною кислотою ( $R^2CO_2H$ ). Наприклад, спіропіперидин-інтермедіат ІІс та карбонову кислоту ( $R^2CO_2H$ ) можна сполучати створенням активованого естеру карбонової кислоти, як-то зв'язуванням карбонової кислоти ( $R^2CO_2H$ ) зі сполучувальним реагентом пептиду, як-то HATU або EDC·HCl, у присутності або відсутності активувального засобу, як-то HOBT, та у присутності придатної основи, як-то DIEA, триетиламін або NMM, у придатному розчиннику, як-то ТГФ та/або ДМФ, DMA або дихлорометан, і тоді – зв'язування активованого естеру карбонової кислоти з похідним спіропіперидину ІІс для створення сполуки формули Іс. Подібну методологію можна застосовувати для отримання відповідних аналогів N1 (де  $R^1$  є на N1 кільця піразолу краще ніж на N2, як показано в схемі реакції ІІІ).

Сполуки заявленого винаходу можна виділяти та застосовувати як такі або у формі їх фармацевтично прийнятних солей. Згідно із заявленим винаходом сполуки з множинними основними атомами нітрогену можуть створювати солі зі змінним числом еквівалентів ("екв.") кислоти. Спеціалістам слід розуміти, що всі такі солі є в межах заявленого винаходу.

Фармацевтично прийнятні солі, які тут застосовано стосовно сполук заявленого винаходу, охоплюють фармацевтично прийнятні неорганічні та органічні солі сполуки. Ці солі можна отримувати при кінцевому виділенні та очищенні сполуки, або окремою реакцією цієї сполуки із придатною органічною або неорганічною кислотою та виділенням утвореної солі. Типові солі охоплюють, але без обмеження, гідрогенбромід, гідрогенхлорид, гідрогенйодид, сульфат, гідрогенсульфат, нітрат, ацетат, трифлуороацетат, оксалат, бесилат, пальмітат, памоат, малонат, стеарат, лаурат, малат, борат, бензоат, лактат, фосфат, гексафлуорофосфат, бензолсульфонат, тозилат, форміат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тарtrat, нафтилат, мезилат, глюкогептонат, лактобінат та лаурилсульфонат, та подібне. Ці солі також можуть охоплювати катіони, базовані на лужних та лужноземельних металах, як-то натрій, літій, калій, кальцій, магній, та подібне, а також нетоксичний амоній, четвертинний амоній, та катіони аміну, охоплюючи, але без обмеження, амоній, тетраметиламоній, тетраетиламоній, метиламоній, диметиламоній, триметиламоній, триетиламоній, етиламоній та подібне. Додаткові приклади дивись, наприклад, у Berge, та інші, J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

Сполуки заявленого винаходу можуть існувати в більше ніж одній кристалічній формі. Поліморфи сполуки формули (I) та їх солі (охоплюючи сольвати та гідрати) складають частину цього винаходу та їх можна отримувати кристалізацією сполуки заявленого винаходу в різних умовах. Наприклад, застосовуючи різні розчинники або суміші різних розчинників для рекристалізації; кристалізація при різних температурах; різні способи охолодження, змінюючи діапазон від дуже швидкого до дуже повільного охолодження протягом кристалізації. Поліморфи також можна отримувати нагріванням або плавленням сполуки заявленого винаходу, а потім поступовим або швидким охолодженням. Присутність поліморфів можна визначати на твердій пробі наступними способами: спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР), інфрачервона (ІЧ) спектроскопія, диференціальна сканувальна калориметрія, рентгенівська дифракція на порошку або такі інші способи.

Згідно з винаходом також охоплено мічені ізотопом сполуки, які ідентичні описаним формулою (I), але в природі знайдено явище, що один або більше атомів заміщено атомом, який має атомну масу або масове число відмінне від атомної маси або масового числа. Приклади ізотопів, які можна вводити в сполуки винаходу, охоплюють наступні ізотопи: водень, карбон, нітроген, оксиген, сульфур та флуор, як-то  $^2H$ ,  $^3H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{14}C$ ,  $^{15}N$ ,  $^{18}O$ ,  $^{17}O$ ,  $^{35}S$ ,  $^{36}S$ ,  $^{125}I$ ,  $^{129}I$ , та  $^{18}F$ , відповідно. Певні мічені ізотопом сполуки заявленого винаходу, наприклад, у які введено радіоактивні ізотопи, як-то  $^3H$  та  $^{14}C$ , є корисними в ліках та/або при розміщенні в субстраті тканин для аналізів. Мічені тритієм (тобто,  $^3H$ ), та карбоном-14 (тобто,  $^{14}C$ ), ізотопи конкретно є кращими для легшого отримання та визначення. Крім того, заміщення важкими ізотопами, як-то дейтерій (тобто,  $^2H$ ), може надавати певні терапевтичні переваги від більшої метаболічної стабільності, наприклад, підвищеного періоду напіввиведення *in vivo* або знижених потреб дозування та, отже, може бути переважним у деяких обставинах. Мічені ізотопом сполуки заявленого винаходу звичайно можна отримувати застосуванням способів, розкритих у схемах та/або в прикладах нижче, легким заміщенням неміченого ізотопом реагенту на мічений придатним ізотопом реагент.

Сполуки заявленого винаходу можуть містити стереогенічні центри. Ці сполуки можуть існувати як суміші енантіомерів або як чисті енантіомери, де сполука містить стереогенічний центр, сполуки можуть розпадатися на чисті енантіомери способами, які відомі спеціалісту в рівні техніки, наприклад, утворенням діастереоізомерних солей, які можна відокремити, наприклад, кристалізацією; утворенням стереоізомерних похідних або комплексів, які можна відокремити, наприклад, наступним: кристалізація, газорідинна або рідинна хроматографія;



селективна реакція одного енантіомера з конкретним для енантіомеру реагентом, наприклад, ферментативна естерифікація; або газорідинна або рідинна хроматографія у хоральному середовищі, наприклад на хоральній підкладці, наприклад, діоксид силіцію зі зв'язаним хіральним лігандом або в присутності хірального розчинника. Слід розуміти, що там, де бажаний стереоізомер перетворено до ще одної хімічної речовини, одним зі способів відокремлення, описаним вище, подальший етап, крім того, потребує вивільнення бажаної енантіомерної форми. Альтернативно, конкретні стереоізомери можна синтезувати, застосовуючи оптично активний вихідний матеріал, асиметричним синтезом, застосовуючи оптично активні реагенти, субстрати, каталізатори або розчинники, або перетворенням одного стереоізомера до іншого асиметричним перетворенням.

Сполуки заявленого винаходу можуть існувати в різних стабільних конформаційних формах, які можна відокремлювати. Торсіонна асиметрія, обумовлена обмеженою ротацією, приблизно, одного асиметричного зв'язку, наприклад, внаслідок стеричної перешкоди деформації кільця, може дозволяти відокремлення різних конформерів. Сполуки заявленого винаходу, крім того, охоплюють кожний конформаційний ізомер сполуки формули (I) та їх суміші.

Сполуки заявленого винаходу є корисними для лікування хвороб, станів та/або розладів, модульованих інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилаз (зокрема, ACC1 та ACC2). Ще одне втілення заявленого винаходу – фармацевтична композиція, яка містить терапевтично ефективну кількість сполуки заявленого винаходу та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач або носій. Сполуки заявленого винаходу (охоплюючи композиції та застосовані тут способи) також можна застосовувати у виготовленні медикаменту для описаних тут терапевтичних застосувань.

Типову композицію отримано змішуванням сполуки заявленого винаходу та носія, розріджувача або наповнювача. Придатні носії, розріджувачі та наповнювачі, добре відомі спеціалісту в рівні техніки, охоплюють матеріали, як-то карбоксигідрати, воски, водорозчинні та/або здатні до набухання полімери, гідрофільні або гідрофобні матеріали, желатин, олії, розчинники, вода та подібне. Застосованому конкретному носію, розріджувачу або наповнювачу слід залежати від способів та мети застосування сполуки заявленого винаходу. Вибір розчинників звичайно базовано на розчинниках, відомих спеціалістам у рівні техніки, які безпечні (GRAS) для застосування до ссавця. Взагалі безпечні розчинники є нетоксичними водними розчинниками, як-то вода, та інші нетоксичні розчинники, які є розчинними або здатні до змішування у воді. Придатні водні розчинники охоплюють наступне: вода, етанол, пропіленгліколь, поліетиленгліколі (наприклад, PEG400, PEG300), т.д. та їх суміші. Композиції також можуть охоплювати один або більше наступного: буфери, засоби стабілізації, поверхнево-активні речовини, засоби зволоження, змащувачі, емульгатори, засоби суспендування, консерванти, антиоксиданти, засоби для непрозорості, ковзні засоби, технологічні добавки, барвники, підсолоджувачі, смакові речовини, ароматизатори та інші відомі добавки для отримання найкращого надання ліків (тобто, сполука заявленого винаходу або їх фармацевтична композиція) або допоміжного засобу у виготовленні фармацевтичного продукту (тобто, для застосування у виготовленні медикаменту).

Композиції можна отримувати, застосовуючи звичайні способи розчинення та змішування. Наприклад, масу речовини ліків (тобто, сполуку заявленого винаходу або стабілізовану форму сполуки (наприклад, комплекс із похідним циклодекстрину або іншим відомим засобом комплексоутворення)) розчиняли в придатному розчиннику в присутності одного або більше описаних вище наповнювачів. Швидкість розчинення погано розчинних у воді сполук можна підвищити застосуванням висушеної розпилюванням дисперсії, як-то описано в Takeuchi, H., та інші in "Enhancement of the dissolution rate of a poorly water-soluble drug (tolbutamide) by a spray-drying solvent deposition method and disintegrants" J. Pharm. Pharmacol., 39, 769-773 (1987); та EP0901786 B1 (US2002/009494), охоплених тут посиланням. Сполуку заявленого винаходу типово сформовано у формах фармацевтичного дозування для отримання легко контрольованого дозування ліків та для надання пацієнту кращого та легкого в застосуванні продукту.

Фармацевтичні композиції також охоплюють сольвати та гідрати сполук заявленого винаходу. Термін "сольват" стосується молекулярного комплексу сполуки, зображеного формулою (I) (охоплюючи її фармацевтично прийнятні солі) з одною або більше молекул розчиннику. Такі молекули розчиннику звичайно застосовують у фармацевтичній майстерності, які, як відомо, є нешкідливими для реципієнта, наприклад, наступне: вода, етанол, етиленгліколь, та подібне, Термін "гідрат" стосується комплексу, де молекулою розчинника є вода. Сольвати та/або гідрати переважно існують у кристалічній формі. Інші розчинники можна застосовувати як сольвати інтермедіату в отриманні більш бажаних сольватів, як-то метанол,

метил т-бутил-етер, етилацетат, метилацетат, (S)-пропіленгліколь, (R)-пропіленгліколь, 1,4-бутин-діол та подібне.

Фармацевтичну композицію (або склад) для застосування можна пакувати різними шляхами залежно від способу застосування ліків. Звичайно, виріб для розміщення охоплює контейнер, де розміщено фармацевтичну композицію в придатній формі. Придатні контейнери добре відомі спеціалісту в рівні техніки та охоплюють матеріали, як-то склянки (пластик та скло), пакети-саше, ампули, пластикові пакети, металеві циліндри та подібне. Контейнер також може містити блок, захищений від необережного доступу до вмісту пакування. Крім того, контейнер має на ньому етикетку депонованого, де описано вмісти контейнера. Етикетка також містить придатні застереження.

Крім того, згідно із заявленим винаходом надано спосіб лікування хвороб, станів та/або розладів, модульованих інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилаз у тварин, який полягає в застосуванні до тварини, яка потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки заявленого винаходу або її фармацевтичної композиції, яка містить ефективну кількість сполуки заявленого винаходу, та фармацевтично прийнятної наповнювачу, розріджувачу або носія. Спосіб є конкретно корисним для лікування хвороб, станів та/або розладів, яке є ефективним від інгібування ферментів ацетил-CoA карбоксилаз.

Один аспект заявленого винаходу – лікування ожиріння та пов'язаних з ожирінням розладів (наприклад, як-то надлишкова маса, приріст ваги, або збереження маси).

Ожиріння та надлишкову масу звичайно визначено індексом маси тіла (BMI), який корелює із загальною жировою масою тіла та встановлює відносний ризик хвороби. BMI розраховано масою в кілограмах, розділеною на зріст у метрах у квадраті ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ). Надлишкову масу типово визначають при BMI, яке дорівнює  $25\text{--}29.9 \text{ кг}/\text{м}^2$ , та ожиріння типово визначають при BMI, яке дорівнює  $30 \text{ кг}/\text{м}^2$ . Дивись, наприклад, National Серс, Lung, and Blood Institute, Clinical Guidelines on Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, The Evidence Report, Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, NIH publication no. 98-4083 (1998).

Ще один аспект заявленого винаходу – лікування (наприклад, затримка розвитку або початку) діабету або споріднених з діабетом розладів, охоплюючи наступне: діабет типу 1 (залежний від інсуліну цукровий діабет, також залежний від інсуліну "IDDM") та діабет типу 2 (незалежний від інсуліну цукровий діабет, також залежний від інсуліну "NIDDM"), послаблена толерантність до глюкози, резистентність до інсуліну, гіперглікемія та діабетичні ускладнення (як-то атеросклероз, коронарна хвороба серця, інсульт, периферійна васкулярна хвороба, нефропатія, гіпертонія, нейропатія та ретинопатія).

Згідно із ще одним аспектом заявленого винаходу – лікування співзахворювань щодо ожиріння, як-то метаболічний синдром. Метаболічний синдром охоплює хвороби, стани або розлади, як-то дисліпідемія, гіпертонія, резистентність до інсуліну, діабет (наприклад, діабет 2 типу), коронарна хвороба серця та серцева недостатність. Конкретнішу інформацію щодо метаболічного синдрому, дивись, наприклад, у Zimmet, P.Z., та інші, "The Metabolic Syndrome: Perhaps an Etiologic Mystery but Far From a Myth – Where Does the International Diabetes Federation Stand?," Diabetes & Endocrinology, 7(2), (2005); та Alberti, K.G., та інші, "The Metabolic Syndrome – A New Worldwide Definition," Lancet, 366, 1059-62 (2005). Переважно, застосування сполук заявленого винаходу надає статистично важливе ( $p < 0.05$ ) зниження, принаймні, одного фактору ризику кардіоваскулярної хвороби, як-то зменшення лептину плазми, С-реактивного білку (CRP) та/або холестерину, у порівнянні з контролем при наповнювачеві у відсутності ліків. Застосування сполуки заявленого винаходу також може передбачати статистично важливе зниження ( $p < 0.05$ ) рівнів глюкози сироватки.

Крім того, згідно із ще одним аспектом винаходу – лікування хвороби безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) та печінкової резистентності до інсуліну.

Для дорослої людини, яка має масу тіла, приблизно, 100 кг, дозування в діапазоні, приблизно, 0.001 мг – 10 мг на кілограм маси тіла типово є достатньою, переважно приблизно, 0.1 мг/кг – 5.0 мг/кг, краще, приблизно, 0.01 мг/кг – 1 мг/кг. Однак, деякі зміни в загальному діапазоні дозування можуть бути потрібними залежно від віку та маси суб'єкту, якого лікують, призначеного шляху застосування, конкретної призначеної сполуки та подібне. Визначення діапазонів дозування та оптимальні дозування для конкретного пацієнта добре зрозумілі звичайному спеціалісту в рівні техніки, який має перевагу в поточному застосуванні. Слід звернути увагу, що сполуки заявленого винаходу можна застосовувати в композиціях уповільненого вивільнення, контрольованого вивільнення та безперервного вивільнення, що також добре відомо звичайному спеціалісту в рівні техніки.

Сполуки цього винаходу також можна застосовувати в поєднанні з іншими

фармацевтичними засобами для лікування описаних тут хвороб, станів та/або розладів. Отже, також заявлено способи лікування, які охоплюють застосування сполуки заявленого винаходу в поєднанні з іншими фармацевтичними засобами. Придатні фармацевтичні засоби, які можна застосовувати в поєднанні зі сполуками заявленого винаходу, охоплюють засоби проти

5 ожиріння (охоплюючи засоби для пригнічення апетиту), антидіабетичні засоби, антигіперглікемічні засоби, засоби зниження ліпиду, та антигіпертензивні засоби.

Придатні засоби зниження ліпиду, які можна комбінувати зі сполуками заявленого винаходу, охоплюють, наприклад, описані на сторінці 30, рядку 20, сторінці 31, рядку 30 у WO 2011005611. Засоби зниження ліпиду охоплюють наступне: секвестранти жовчної кислоти, інгібітори HMG-CoA-редуктази, інгібітори HMG-CoA-синтази, інгібітори абсорбції холестерину, інгібітори ацил-

10 коферменту А-холестерин-ацил-трансферази (ACAT), інгібітори CETP, інгібітори сквален-синтази, агоністи PPAR, модулятори рецептору FXR, модулятори рецептору LXR, інгібітори синтезу ліпопротеїну, інгібітори системи ренін-ангіотензину, агоністи d-часткового PPAR, інгібітори реабсорбції жовчної кислоти, агоністи PPAR-γ, інгібітори синтезу тригліцериду,

15 інгібітори транспорту мікросомального тригліцериду, модулятори транскрипції, інгібітори сквалену епоксидози, індуктори рецептору ліпопротеїну низької густини, інгібітори агрегації тромбоциту, інгібітори 5-LO або FLAP, зв'язаний з ніацином хром та інші засоби, які вражають ліпід композиції.

Придатні антигіпертензивні засоби, які можна комбінувати зі сполуками заявленого винаходу, охоплюють, наприклад, описані на сторінці 31, рядку 31, сторінці 32, рядку 18 у WO 2011005611. Антигіпертензивні засоби охоплюють наступне: сечогінні, бета-адренергічні

20 блокатори, блокатори кальцієвого каналу, інгібітори ферменту перетворення ангіотензину (ACE), інгібітори нейтральної ендопептидази, антагоністи ендотеліну, вазодилататори, антагоністи рецептору ангіотензину II, α/β-адренергічні блокатори, блокатори альфа 1, агоністи альфа 2, інгібітори альдостерону, інгібітори рецептору мінералокортикоїду, інгібітори реніну та засоби ангіопонтин-2-зв'язування.

Придатні антидіабетичні засоби охоплюють наступне: інгібітор ацетил-CoA карбоксилази- (ACC), як-то описані WO2009144554, WO2003072197, WO2009144555 та WO2008065508, інгібітор діацилгліцерин О-ацилтрансферази 1 (DGAT-1), як-то описані в O09016462 або

30 WO2010086820, AZD7687 або LCQ908, інгібітор діацилгліцерин О-ацилтрансферази 2 (DGAT-2), інгібітори моноацилгліцерин О-ацилтрансферази, інгібітор фосфордіестерази (PDE)-10, активатор AMPK, сульфонілсечовина, (наприклад, ацетогексамід, хлорпропамід, діабінез, глібенкламід, гліпізид, глібенкламід, глімепірид, гліклазид, гліпентид, гліквідон, глісоламід, толазамід та толбутамід), меглітидин, інгібітор α-амілази (наприклад, тендамістад, трестатин та AL-3688), інгібітор α-глюкозид гідролази (наприклад, аскарбози), інгібітор α-глюкозидази (наприклад, адипозин, каміглібоза, еміглітат, міглітол, воглібоза, прадиміцин-Q та салбостатин), агоніст PPARγ (наприклад, балаглітазон, циглітазон, дарглітазон, енглітазон, ісаглітазон, піоглітазон, росиглітазон та троглітазон), агоніст PPAR α/γ (наприклад, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 та SB-219994), бігуанід (наприклад,

40 мелформін), модулятор глюкагон-подібного пептиду 1 (GLP-1), як-то агоніст (наприклад, ексендин-3 та ексендин-4), ліраглутид, албіглутид, ексенатид (Byetta®), албіглутид, таспоглутид, ліксизенатид, дилаглутид, семаглутид, NN-9924, TTP-054, інгібітор протеїн тирозин фосфатази-1B (PTP-1B) (наприклад, тродусквемін, екстракт гіртіозалу та сполуки, розкриті в Zhang, S., та інші, Ліки Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)), інгібітор SIRT-1 (наприклад, ресвератрол, GSK2245840 або GSK184072), інгібітор дипептидилпептидази IV (DPP-IV) (наприклад, – у WO2005116014, ситагліптин, вілдагліптин, алогліптин, дитогліптин, лінагліптин та саксагліптин), засіб, який посилює секрецію інсуліну, інгібітор окиснення жирної кислоти, антагоніст A2, інгібітор c-jun аміно-термінальної кінази (JNK), активатор глюкوکінази (GKa), як-то описані в WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-

50 399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 або GKM-001, інсулін, міметичний інсулін, інгібітор глікогенфосфорилази (наприклад, GSK1362885), агоніст рецептору VPAC2, інгібітори SGLT2, як-то описані в E.C. Chao та інші Nature Reviews Drug Discovery 9, 551-559 (July 2010), охоплюючи дапагліфлозин, канагліфлозин, BI-10733, тофогліфлозин (CSG452), ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 та LX4211, а також – у WO2010023594, модулятор рецептору глюкагону, як-то описаний в Demong, D.E. та інші Annual Reports in Medicinal Chemistry 2008, 43, 119-137, модулятори GPR119, конкретно – агоністи, як-то описані в WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones, R.M. та інші in Medicinal Chemistry 2009, 44, 149-170 (наприклад, MBX-2982, GSK1292263, APD597 та PSN821), похідні або аналоги FGF21, як-то описані в Kharitonov, A. та інші та інші, Current Opinion у

60 Investigational Drugs 2009, 10(4)359-364, модулятори рецептору TGR5 (також позначені

GPBAR1), конкретно – агоністи, як-то описані в Zhong, M., Current Topics у Medicinal Ximi, 2010, 10(4), 386-396 та INT777, агоністи GPR40, як-то описані в Medina, J.C., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 75-85, охоплюючи, але без обмеження, TAK-875, модулятори GPR120, конкретно – агоністи, активатори високої спорідненості рецептору нікотинової кислоти (HM74A), та інгібітори SGLT1, як-то GSK1614235. Крім того, показовий перелік антидіабетичних засобів, які можна комбінувати зі сполуками заявленого винаходу, можна знайти, наприклад, на сторінці 28, рядку 35, на сторінці 30, рядку 19 у WO2011005611. Переважними антидіабетичними засобами є метформін та інгібітори DPP-IV (наприклад, ситагліптин, вілдагліптин, алогліптин, дитогліптин, лінагліптин та саксагліптин). Інші антидіабетичні засоби можуть охоплювати інгібітори або модулятори ферментів карнітин-пальмітоїл-трансферази, інгібітори фруктоза-1,6-дифосфатази, інгібітори альдоза-редуктази, інгібітори рецептору мінералокортикоїду, інгібітори TORC2, інгібітори CCR2 та/або CCR5, інгібітори ізоформ PKC (наприклад, PKCa, PKCb, PKCg), інгібітори жирної кислоти синтетази, інгібітори серин-пальмітоїл-трансферази, модулятори GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1.3, ретинол-зв'язувального білку 4, рецептор глюкостероїду, рецептори соматостатину (наприклад, SSTR1, SSTR2, SSTR3 та SSTR5), інгібітори або модулятори PDHK2 або PDHK4, інгібітори MAP4K4, модулятори сімейства IL1, охоплюючи IL1бета, модулятори RXRальфа. Крім того, придатні антидіабетичні засоби охоплюють механізми в списку в Carpino, P.A., Goodwin, B. Expert Opin. Ther. Pat, 2010, 20(12), 1627-51.

Придатні засоби проти ожиріння (деякі з них також можуть діяти як антидіабетичні засоби) охоплюють інгібітори 11 $\beta$ -гідрокси-стероїд-дегідрогенази-1 (11 $\beta$ -HSD тип 1), інгібітор стеароїл-CoA десатурази-1 (SCD-1), агоністи MCR-4, агоністи холецистокініну-A (CCK-A), інгібітори перепоглинання моноаміну (як-то сибутрамін), симпатоміметичні засоби,  $\beta_3$ -адренергічні агоністи, агоністи допаміну (як-то бромокриптин), аналоги меланоцит-стимулювального гормону, агоністи 5HT2c, антагоністи гормону, який концентрує меланін, лептин (білок OB), аналоги лептину, агоністи лептину, антагоністи галаніну, інгібітори ліпази (як-то тетрагідролірстатин, тобто орлістат), анорексичні засоби (як-то агоніст бомбесину), антагоністи нейропептиду-Y (наприклад, антагоністи NPY Y5, як-то велнеперит), PYY<sub>3-36</sub> (охоплюючи його аналоги), модулятор BRS3, змішані антагоністи підтипів опіоїдного рецептору, тироміметичні засоби, дегідроепіандростерон або його аналог, агоністи або антагоністи глюкостероїду, антагоністи орексину, агоністи глюкагон-подібного пептиду-1, циліарні нейротрофічні фактори (як-то придатний Axokine™ від Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY та Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), інгібітори спорідненого з агуті білку людини (AGRP), антагоністи гістаміну 3 або зворотні агоністи, агоністи нейромедину U, інгібітори MTP/АроВ (наприклад, селективні щодо кишечника MTP-інгібітори, як-то дирлотатид, JTT130, Usistapide, SLx4090), антагоніст опіоїду, модулятори рецептору мю-опіоїду, охоплюючи, але без обмеження, GSK1521498, інгібітори MetAp2, охоплюючи, але без обмеження, ZGN-433, засоби з активністю змішаного модулятора при 2 або більшого глюкагону, рецептори GIP та GLP1, як-то MAR-701 або ZP2929, інгібітори транспортеру норадреналіну, антагоністи/зворотні агоністи канабіноїд-1-рецептору, агоністи/антагоністи греліну, оксинтомодулін та аналоги, інгібітори поглинання моноаміну, як-то, але без обмеження, тесофенсин, антагоніст орексину, комбіновані засоби (як-то бупропіон зонісамід, прамілінтид плюс метрелептин, бупропіон плюс налтрексон, фентермін плюс топірамат) та подібне.

Переважні засоби проти ожиріння для застосування в поєднаних аспектах заявленого винаходу охоплюють селективні щодо кишечника MTP-інгібітори (наприклад, дирлотатид, мітратапід та імплітапід, R56918 (CAS No. 403987) та CAS No. 913541-47-6), агоністи CCKa (наприклад, N-бензил-2-[4-(1H-індол-3-ілметил)-5-оксо-1-феніл-4,5-дигідро-2,3,6,10b-тетрааза-бензо[e]азулен-6-іл]-N-ізопропіл-ацетамід, описані в PCT Publication No. WO 2005/116034 або US Publication No. 2005-0267100 A1), агоністи 5HT2c (наприклад, лоркасерин), агоніст MCR4 (наприклад, сполуки, описані в US 6,818,658), інгібітор ліпази (наприклад, цетилістат), PYY<sub>3-36</sub> (як тут застосовано "PYY<sub>3-36</sub>") охоплює аналоги, як-то, наприклад, пеглатед PYY<sub>3-36</sub>, описаний в US Publication 2006/0178501), антагоністи опіоїду (наприклад, налтрексон), олеоїл-естрон (CAS No. 180003-17-2), обінепітид (TM30338), прамілінтид (Symlin®), тесофенсин (NS2330), лептин, бромокриптин, орлістат, AOD-9604 (CAS No. 221231-10-3) та силбутрамін. Переважно сполуки заявленого винаходу та комбіновані лікування застосовано в поєднанні з моціоном та здоровою дієтою.

Усі цитовані патенти США та публікації (охоплюючи всі технічні зведення, наведені в прикладах) повністю охоплено тут посиланням.

Приклади наведено нижче тільки з метою ілюстрації. Композиції, способи та різні параметри, наведені тут, призначено тільки для прикладів різних аспектів та втілень винаходу,

та будь-яким способом не обмежують заявлений винахід.

Описані нижче сполуки та інтермедіати названо, застосовуючи конвенцію щодо найменувань, передбачену Chemdraw Ultra, Version 11.0.1 (CambridgeSoft Corp., Cambridge Massachusetts). Конвенція щодо найменувань, передбачена Chemdraw Ultra, Version 11.0.1, добре відома спеціалісту в рівні техніки, та вважаємо, що конвенція щодо найменувань, передбачена Chemdraw Ultra, Version 11.0.1, звичайно узгоджена з рекомендаціями щодо номенклатури органічної хімії та норм CAS Index IUPAC (International Union Pure and Applied Chemistry). Якщо не вказано інакше, усі реагенти були отримані в продажу. Усі цитовані тут нижче посилання охоплено посиланням.

Флеш-хроматографію робили згідно зі способом, описаним Still та інші, J. Org. Chem., 1978, 43, 2923.

Усі обговорені тут очищення Biotage® робили, застосовуючи колонку Biotage® SNAP, яка містить діоксид силіцію KP-SIL (40-63 мкм, 60 ангстремів) (Biotage AB; Uppsala, Sweden).

Усі обговорені тут очищення Combiflash® робили, застосовуючи систему CombiFlash® Companion (Teledyne Isco; Lincoln, Nebraska), застосовуючи колонки RediSep®, оснащені діоксидом силіцію

Мас-спектр реєстрували на спектрометрі Waters (Waters Corp.; Milford, MA) Micromass Platform II. Якщо не вказано інакше, мас-спектр реєстрували на спектрометрі Waters (Milford, MA) Micromass Platform II.

Хімічні зсуви ЯМР протону надано в частинах на мільйон щодо тетраметилсилану, та їх реєстрували на спектрометрі Varian Unity 300, 400 або 500 МГц (мегагерців) (Varian Inc.; Palo Alto, CA). Хімічні зсуви ЯМР надано в частинах на мільйон щодо тетраметилсилану (для протону) або флуоротрихлорометану (для флуору).

Часи утримування ВЕРХ вимірювали, застосовуючи наступні способи:

Спосіб А:

колонка: Waters Atlantis dC18 4.6 × 50 мм, 5 мкм; мобільна фаза А: 0.05 % ТФОК у воді (об. %); мобільна фаза В: 0.05 % ТФОК в ацетонітрилі (об. %); градієнт: 95 % А/5 % В лінійний до 5 % А/95 % В за 4.0 хвил., тримали при 5 % А/95 % В протягом 5.0 хвил.; швидкість потоку: 2.0 мл/хвил.

Описані нижче препарати застосовували в синтезі сполук, наведених у наступних прикладах.

Наступні вихідні матеріал є придатними від відповідних джерел:

6-бромо-1Н-індол-3-карбонітрил – Indofine Chemical Company, Inc. (Hillsborough, NJ, USA)

5-бромо-1Н-індол-3-карбонітрил – Indofine Chemical Company, Inc. (Hillsborough, NJ, USA)

6-бромо-1Н-індол-2-карбоксамід – Aurora Fine Chemicals LLC (San Diego, CA, USA)

метил 3-іодо-1Н-індазол-5-карбоксилат – Anichem LLC (North Brunswick, NJ, USA)

1Н-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбонова кислота – ACS Scientific Inc. (Metuchen, NJ, USA)

метил 1Н-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбоксилат – ACS Scientific Inc. (Metuchen, NJ, USA)

метил 1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбоксилат – Anichem LLC (North Brunswick, NJ, USA)

5-(метоксикарбоніл)-1Н-індол-2-карбонова кислота – Bepharma Ltd. (Shanghai, China)

метил 3-бромо-1Н-піразоло[3,4-*b*]піридин-5-карбоксилат – MolBridge (Plainsboro, NJ, USA)

етил 2-бромо-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбоксилат – American Custom Chemicals Corp. (San Diego, CA, USA)

5-бромо-1Н-індазол-3-карбонова кислота – Anichem LLC (North Brunswick, NJ, USA)

6-метоксихінолін-3-карбонова кислота – BioBlocks, Inc. (San Diego, CA, USA); отримано як описано в A. Hanna-Elias та інші Austr. J. Chem. 2009, 62, 150-156

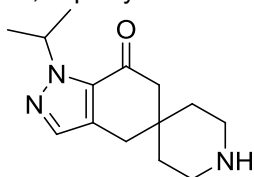
2-амінохінолін-6-карбонова кислота – Princeton Biomolecular Research Inc. (Monmouth Junction, NJ, USA)

5-бромо-2-нітробензальдегід – Oakwood Products, Inc. (West Columbia, SC, USA)

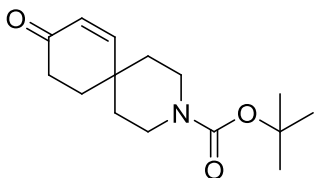
етилхінолін-7-карбоксилат – ASW MedChem, Inc. (New Brunswick, NJ, USA)

Отримання інтермедіатів та вихідних матеріалів.

Інтермедіат 1: 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1Н)-он, показаний нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1. трет-бутил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат

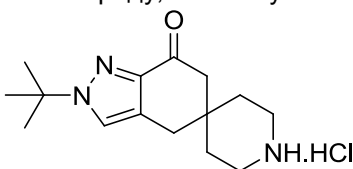


Метилвінілкетон (146 мл, 1.78 мол) додавали до розчину трет-бутил 4-формілпіперидин-1-карбоксилату (375 г, 1.76 мол) у тетрагідрофурані (18 л). Реакційну суміш охолоджували до -5 °С, та додавали краплями розчин калій гідроксиду в етанолі (3N, 0.243 л) протягом 10 хвил. Реакційній суміші дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом 16 год. Додавали циклогексан (10 л), та розчин промивали насиченим натрій хлоридом (3 × 10 л). Органічний шар концентрували до олії. Цю олію розчиняли в 2 л 80:20 циклогексану/етилацетату та фільтрували через Целіт® для видалення нерозчинного матеріалу. Фільтрат очищали на флеш-хроматографічній колонці (30 % етилацетат/гексани), що дало продукт як олію. Олію розтирали в гексанах, що дало заголовну сполуку як безбарвну тверду речовину (131 г, 28 %).

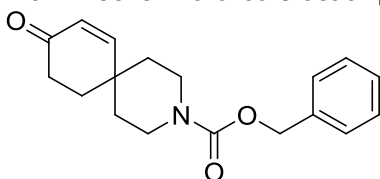
Етап 2. 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он

Розчин трет-бутил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилату (250 г) та трис-(диметиламінометан) (325 мл) у толуолі (1.9 л) нагрівали під зворотним холодильником протягом 4 год. Суміш дистильовали та концентрували до мінімального перемішаного об'єму (110 °С), і тоді додавали толуол (1.9 л). Реакцію дистильовали знов до мінімального перемішаного об'єму та охолоджували до кімнатної температури. Додавали толуол (1.8 л) та ізопропіл-гідразин гідрогенхлорид (135 г), і розчин нагрівали під зворотним холодильником протягом 5 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та промивали лимонною кислотою (10 % водн., 2 × 150 мл) і водою (200 мл). Тоді органічний шар дистильовали до мінімального перемішаного об'єму. Додавали метанол (2 л) та дистильовали до мінімального перемішаного об'єму. Це повторювали з метанолом (2 л). Розчин дистильовали в метанолі (2.5 л) та додавали N-бромосукцинімід (176 г) в одній порції. Розчин перемішували при 23 °С протягом 2 год. Додавали водний розчин натрій тіосульфату (5 мас. %, 0.5 л), та суміш перемішували протягом 15 хвил. Реакційну суміш концентрували через дистиляцію (45 °С, 210 мм Hg), приблизно, до 0.5 л, і тоді додавали 2-метил тетрагідрофуран (2.5 л). Після перемішування протягом 15 хвил. водний шар відкидали. Органічний шар концентрували, приблизно, до 0.2 л та додавали тетрагідрофуран (0.5 л). До суміші додавали розчин калій трет-бутоксиду в тетрагідрофурані (1.9 л, 1 М розчин). Розчин нагрівали до 60 °С та перемішували протягом 1 год. Після охолодження до кімнатної температури, додавали водну хлоридну кислоту (1 N, 2.2 л) протягом 20 хвил. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 20 хвил., і тоді шари відокремлювали. Водний шар видаляли та екстрагували етилацетатом (1.75 л). Комбіновані органічні шари промивали водою (1 л) та концентрували через дистиляцію (4 л розчиннику видаляли). Додавали етилацетат (1.8 л), та розчин концентрували до мінімального перемішаного об'єму. Додавали етилацетат (3 л) та метанол (0.8 л), та розчин охолоджували до 0 °С. Додавали краплями ацетил-хлорид (401 мл) протягом 20 хвил., та розчин перемішували при 0 °С протягом 4 год. Осад збирали фільтруванням під азотом. Фільтрат промивали етилацетатом (0.5 л) та сушили у вакуумній печі при 40 °С, що дало заголовну сполуку як не зовсім білу тверду речовину (241 г). +EPI (M+H) 248.4; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 7.43 (s, 1 H), 5.32-5.42 (m, 1 H), 3.15-3.25 (m, 4 H), 2.89 (s, 2 H), 2.64 (s, 2 H), 1.69-1.90 (m, 4 H), 1.37-1.45 (m, 6 H).

Інтермедіат 2: сіль 2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он гідрогенхлориду, показану нижче, отримували як показано нижче:

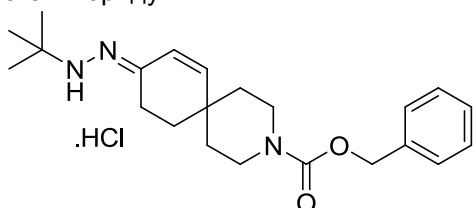


Етап 1. бензил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат



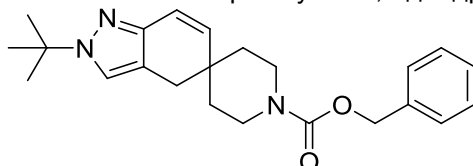
До бензолового (700 мл) розчину бензил 4-формілпіперидин-1-карбоксилату (90.0 г, 364 ммол) у 2 л 3-горлій колбі, оснащений уловлювачем Dean-Stark, додавали при перемішуванні п-толуолсульфонову кислоту (6.92 г, 36.4 ммол). Реакцію нагрівали до 70 °С і додавали 3-бутен-2-он (61.8 мл, 753 ммол). Суміш нагрівали під зворотним холодильником протягом 24 год., збираючи відігнану воду в уловлювачі. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та промивали 500 мл насиченого водн. натрій гідрогенкарбонату. Органічну фазу сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Отриману темно-коричневу олію брали в 200 мл дихлорометану та фільтрували через прокладку діоксиду силіцію (600 мл діоксиду силіцію), елюючи 2 л гептану, а потім – 3 л 50 % етилацетату/гептану, і тоді – 3 л етилацетату. Фракції, які містять чистий продукт комбінували та концентрували, що дало 68.1 г заголовної сполуки як густої коричневої олії. Фракції, які містять нечистий продукт, комбінували та концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці (10-80 % етилацетат / гептани), що дало додаткові 23.6 г заголовної сполуки як густої коричневої олії. Отримували поєднаний вихід 91.7 г, (94.1 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.27-7.43 (m, 5 H), 6.79 (d, J=10.3 Гц, 1 H), 5.95 (d, J=10.3 Гц, 1 H), 5.13 (s, 2 H), 3.56-3.71 (m, 2 H), 3.39-3.55 (m, 2 H), 2.38-2.50 (m, 2 H), 1.96 (t, J=6.7 Гц, 2 H), 1.52-1.70 (m, 4 H).

Етап 2. сіль (Е)-бензил 9-(2-трет-бутилгідразоно)-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат гідрогенхлориду



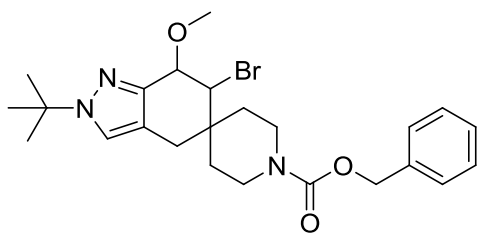
Бензил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат (4.89 г, 16.3 ммол) розчиняли в етанолі (60 мл) та додавали трет-бутилгідразин гідрогенхлорид (2.44 г, 19.6 ммол). Суміш нагрівали під зворотним холодильником протягом 4 год., і тоді перемішували при 60 °С протягом 48 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували під зниженим тиском, що дало рудувато-коричневу олію, яка тверднула при стоянні, що дало 6.60 г (99 %) заголовної сполуки як рудувато-коричневої твердої речовини. +EPI (M+H) 370.3; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.26-7.42 (m, 5 H), 6.46 (d, J=10.0 Гц, 1 H), 6.26 (br. s., 1 H), 5.08-5.16 (m, 2 H), 3.43-3.58 (m, 4 H), 3.19 (s, 2 H), 1.78 (s, 2 H), 1.44-1.63 (m, 4 H), 1.17-1.30 (m, 9 H).

Етап 3. бензил 2-трет-бутил-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



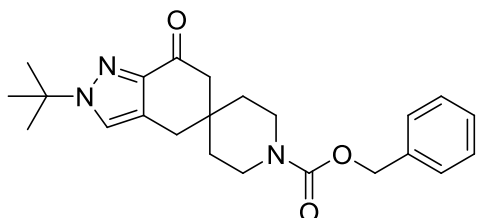
(Е)-Бензил 9-(2-трет-бутилгідразоно)-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат гідрогенхлоридну сіль (8.00 г, 19.7 ммол) розчиняли в дихлорометані (100 мл) та обробляли натрій гідрогенкарбонатом (1.70 г, 19.7 ммол). Розчин перемішували протягом 30 хвил. і тоді фільтрували та концентрували під зниженим тиском, що дало (Е)-бензил 9-(2-трет-бутилгідразоно)-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат. Круглодонну колбу 250 мл завантажували діметилформамідом (80 мл) та охолоджували до 0 °С. Додавали краплями оксихлорид фосфору (5.51 мл, 59.1 ммол) протягом 2 хвил., та розчин перемішували протягом 30 хвил. при 0 °С. До цього розчину додавали (Е)-бензил 9-(2-трет-бутилгідразоно)-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилат у діметилформаміді (15 мл), та реакцію нагрівали при 80 °С протягом 18 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували під зниженим тиском. Отриману олію розчиняли в етилацетаті (500 мл) та промивали розсолем (2 × 150 мл). Водний шар екстрагували додатковими 100 мл етилацетату. Комбіновані органічні шари сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Отриману олію очищали флеш-хроматографією на колонці (10-80 % етилацетат / гептан), що дало 4.89 г (65 %) заголовної сполуки як блідої жовтої олії. +EPI (M+H) 380.0; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.25-7.36 (m, 5 H), 7.18 (s, 1 H), 6.57 (d, J=10.0 Гц, 1 H), 5.86 (d, J=10.0 Гц, 1 H), 5.12 (s, 2 H), 3.51-3.69 (m, 2 H), 3.36-3.53 (m, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 1.59-1.74 (m, 2 H), 1.52-1.58 (m, 9 H), 1.41-1.53 (m, 2 H).

Етап 4. бензил 6-бромо-2-трет-бутил-7-метокси-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



Бензил 2-трет-бутил-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (560 мг, 1.48 ммол) розчиняли в 20 % суміші метанолу / тетрагідрофурану (25 мл). Додавали N-бромосукцинімід (315 мг, 1.77 ммол), та суміш перемішували протягом 30 хвил. Суміш концентрували під зниженим тиском. Отриману олію розподіляли між етилацетатом (50 мл) та водою (50 мл). Органічну фазу сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Отриману олію очищали флеш-хроматографією на колонці (10-80 % етилацетат / гептан), що дало 538 мг (73 %) заголовної сполуки як безбарвної олії.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.27-7.43 (m, 6 H), 5.12 (s, 2 H), 4.74 (d,  $J=2.7$  Гц, 1 H), 4.41 (d,  $J=2.5$  Гц, 1 H), 3.60-3.84 (m, 2 H), 3.54-3.61 (m, 3 H), 3.14-3.39 (m, 2 H), 2.59 (s, 2 H), 1.86 (br. s., 1 H), 1.69 (br. s., 3 H), 1.51-1.60 (m, 9 H).

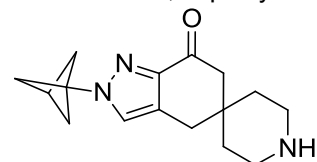
Етап 5. бензил 2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



Бензил 6-бromo-2-трет-бутил-7-метокси-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (150 мг, 0.31 ммол) розчиняли в 5 мл тетрагідрофурану та обробляли калій трет-бутоксидом (0.61 мл, 0.61 ммол, 1 М тетрагідрофуран) та перемішували протягом 30 хвил. Додавали водн. 2 N HCl (5 мл), та суміш перемішували протягом 15 хвил. при кімнатній температурі. Суміш тоді розбавляли 50 мл води та екстрагували етилацетатом (50 мл). Органічний шар сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Залишок очищали флеш-хроматографією на колонці (10-80 % етилацетат / гептан), що дало 86 мг (71 %) заголовної сполуки як чистої олії.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.38 (s, 1 H), 7.27-7.35 (m, 5 H), 5.11 (s, 2 H), 3.48 (t,  $J=5.8$  Гц, 4 H), 2.71 (s, 2 H), 2.57 (s, 2 H), 1.57-1.66 (m, 9 H), 1.47-1.59 (m, 4 H).

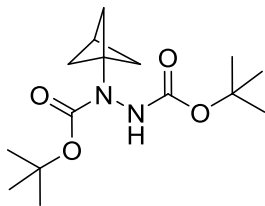
Етап 6. сіль 2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он гідрогенхлориду Бензил 2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (441 мг, 1.12 ммол) розчиняли в метанолі (15 мл) та обробляли амоній форміатом (217 мг, 3.34 ммол) та паладієм на вугіллі (50 мг, 10 % Pd, 50 %  $\text{H}_2\text{O}$ ). Реакцію перемішували 2 год. при кімнатній температурі й тоді видаляли каталізатор фільтруванням. Фільтрат концентрували під зниженим тиском. Отримане безбарвне тверде брали в етилацетаті (20 мл) та обробляли 0.5 M HCl у діетилетері (1 мл). Суміш перемішували протягом 30 хвил. та концентрували під зниженим тиском. Отримане безбарвне тверде розтирали з гептаном (20 мл), що дало 265 мг (80 %) заголовної сполуки як безбарвної твердої речовини.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 7.74 (s, 1 H), 3.20 (t,  $J=6.1$  Гц, 4 H), 2.88 (s, 2 H), 2.64 (s, 2 H), 1.67-1.91 (m, 4 H), 1.55-1.63 (m, 9 H).

Інтермедіат 3: 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он, показаний нижче, отримували як показано нижче:



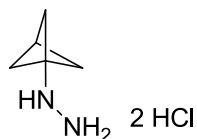
Етап 1: ди-трет-бутил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)гідазин-1,2-дикарбоксилат





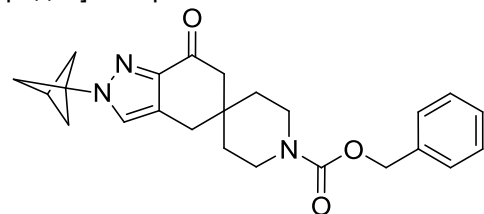
Трис(2,2,6,6-тетраметил-3,5-гептандіонато)манган(III) (281 мг, 0.460 ммол) розчиняли в 2-пропанолі (100 мл) у 1 л 3-горл колбі, оснащений додатковою лійкою, патрубком для впуску газу та термометром. Розчин охолоджували до  $-15^{\circ}\text{C}$  під азотом. Ди-трет-бутил азодикарбоксилат (8.11 г, 34.5 ммол) та фенілсилан (2.9 мл, 23 ммол) розчиняли в дихлорометані (100 мл), та цей отриманий оранжевий розчин додавали краплями до вказаного вище охолодженого розчину протягом 10 хвил., підтримуючи внутрішню температуру, приблизно, при  $-10^{\circ}\text{C}$ . Розчин [1.1.1]пропелану (Journal of American Chemical Society (2001), 123(15), 3484-3492) (50 мл, 23 ммол, 0.46 M у пентані) додавали до реакційної суміші в одній порції при  $-15^{\circ}\text{C}$ . Реакцію перемішували при  $-15^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвил. Холодну баню видаляли, та реакції дозволяли нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні протягом 4 год. Реакцію концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці (5-20 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (6.38 г, 93 %) як чисту олію, яка тверднула при стоянні. -EPI (M-H) 297.4;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 6.26 (br. s., 1H), 2.37 (s, 1H), 2.02 (s, 6H), 1.45 (s, 18H).

Етап 2: біцикло[1.1.1]пентан-1-ілгідазин гідрогенхлорид



До розчину ди-трет-бутил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)гідазин-1,2-дикарбоксилату (6.38 г, 21.4 ммол) в етилацетаті (20 мл) додавали 4 N хлоридну кислоту в 1,4-діоксані (53.5 мл, 214 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакцію концентрували, та тверде розтирали з гептанами, що дало заголовну сполуку (3.24 г, 89 %) як білу тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 2.42 (s, 1 H), 1.80 (s, 6 H).

Етап 3: бензил 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат

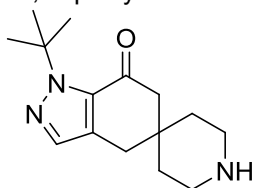


Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному на етапах 1-5 для інтермедіату 2, застосовуючи біцикло[1.1.1]пентан-1-ілгідазин гідрогенхлорид в етапі 2. +EPI (M+H) 406.1;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.28-7.36 (m, 5 H), 7.27 (s, 1 H), 5.10 (s, 2 H), 3.44-3.50 (m, 4 H), 2.70 (s, 2 H), 2.62 (s, 1 H), 2.56 (s, 2 H), 2.31 (s, 6 H), 1.53 (d,  $J=2.5$  Гц, 4H).

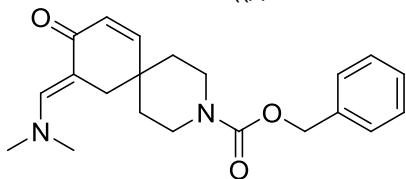
Етап 4: 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он

До розчину бензил 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилату (150 мг, 0.37 ммол) в етилацетаті (10 мл) додавали 10 % паладій на вугіллі (1 мг) та 1-метилциклогексан-1,4-дієн (0.1 мл, 0.9 ммол). Реакцію нагрівали до  $80^{\circ}\text{C}$  та перемішували протягом 2 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через Целіт. Фільтрат концентрували, що дало заголовну сполуку (100 мг, 100 %) як олію. +EPI (M+H) 272.4;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.26 (s, 1 H), 2.82 (dd,  $J=6.63$ , 4.49 Гц, 4 H), 2.69 (s, 2 H), 2.60 (s, 1 H), 2.56 (s, 2 H), 2.30 (s, 6 H), 1.47-1.55 (m, 4 H).

Інтермедіат 4: 1-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он, показаний нижче, отримували як показано нижче:

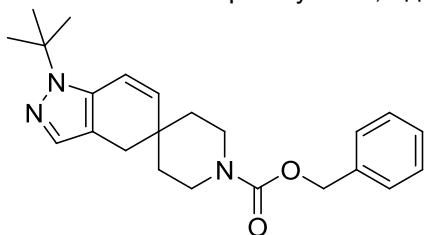


Етап 1. бензил 10-((диметиламіно)метилден)-9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундець-7-ен-3-карбоксилат



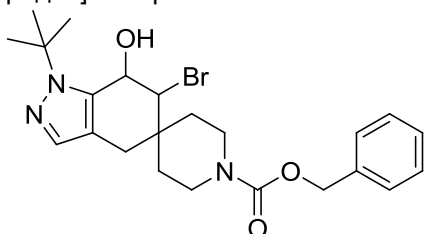
Бензил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундець-7-ен-3-карбоксилат (15.2 г, 51 ммол) розчиняли в толуолі (180 мл) та додавали трис(диметилміно)метан (22.2 г, 27 ммол). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником протягом 5 год., і тоді дозволяли охолоджуватися до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Реакційний розчин концентрували у вакуумі для отримання заголовної сполуки (18.0 г, 100 %). +XІAT (M+H) 354.6; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.49 (s, 1 H), 7.28-7.40 (m, 5 H), 6.59 (d, J=10.16 Гц, 1 H), 6.01 (d, J=9.97 Гц, 1 H), 5.13 (s, 2 H), 3.52-3.66 (m, 2 H), 3.39-3.52 (m, 2 H), 3.07 (s, 6 H), 2.74 (s, 2 H), 1.58-1.73 (m, 2 H), 1.41-1.58 (m, 2 H).

Етап 2. бензил 1-трет-бутил-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



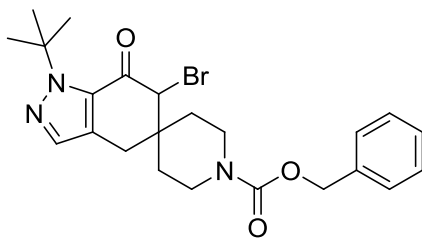
Бензил 10-((диметиламіно)метилден)-9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундець-7-ен-3-карбоксилат (59.2 г, 167 ммол) розчиняли в етанолі (835 мл). До розчину додавали оцтову кислоту (20 мл, 345 ммол) та трет-бутилгідрозин гідрогенхлорид (29.1 г, 234 ммол). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником протягом 1 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували до оранжевої олії. Очищали флеш-хроматографією на колонці (20-40 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (50 г, 79 %) як білу жовту тверду речовину. +EPI (M+H) 380.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.26-7.40 (m, 5 H), 7.17 (s, 1 H), 6.66 (d, J=9.95 Гц, 1 H), 5.77 (d, J=10.15 Гц, 1 H), 5.12 (s, 2 H), 3.38-3.64 (m, 4 H), 2.58 (s, 2 H), 1.60 (s, 12 H), 1.50 (br. s., 1 H).

Етап 3. бензил 6-бромо-1-трет-бутил-7-гідрокси-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



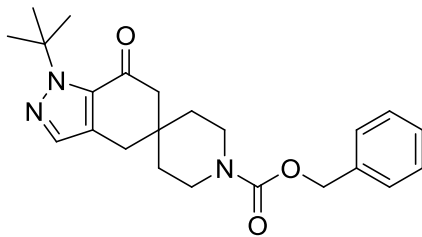
Бензил 1-трет-бутил-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (50 г, 132 ммол) розчиняли в тетрагідрофурані (1 л). До реакції додавали N-бромосукцинімід (24.6 г, 138 ммол) та воду (250 мл). Реакцію перемішували протягом 1 год. при кімнатній температурі. Реакцію розподіляли між етилацетатом та водою. Фази відокремлювали, та органічну фазу промивали 2 рази водою та один раз насиченим водн. натрій хлоридом. Органічну фазу сушили над магній сульфатом, фільтрували, та концентрували у вакуумі. Осад кристалізували з диетилетеру, що дало заголовну сполуку (60.7 г, 97 %) як кремову тверду речовину. +EPI (M+H) 476.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.28-7.36 (m, 5 H), 7.27 (s, 1 H), 5.23 (t, J=4.68 Гц, 1 H), 5.12 (s, 2 H), 4.24 (d, J=4.49 Гц, 1 H), 3.87 (br. s., 2 H), 3.12 (br. s., 2 H), 2.79 (d, J=16.00 Гц, 2 H), 2.59 (d, J=15.80 Гц, 2 H), 1.95 (br. s., 1 H), 1.66 (s, 11 H), 1.58 (br. s., 1 H).

Етап 4. бензил 6-бромо-1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



Бензил 6-бromo-1-трет-бутил-7-гiдрокси-1,4,6,7-тетрагiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-1'-карбоксилат (57.9 г, 122 ммол) розчиняли в ацетонi (1 л) та охолоджували до 0 °C у льодяний банi. До розчину додавали реагент Джонса (122 мл) (Fillion, E. Tetrahedron Letters 2004, 46, 1091-1094). Льодяну баню видаляли та реакцiї дозволяли нагрiватися до кiмнатної температури та перемiшували протягом 45 хвил. Додавали насичений водн. натрiй гiдрогенкарбонат поки припинялось видiлення газу та pH досягав 7. Отриману сумiш фiльтрували через прокладку Целiту®, промиваючи етилацетатом. Шари фiльтрату вiдокремлювали, та водн. шар екстрагували етилацетатом. Комбiнованi органiчні екстракти промивали двiчі водою, один раз насиченим водн. натрiй хлоридом, сушили над магнiй сульфатом, фiльтрували та концентрували. Осад кристалiзували з етилацетату / гептанiв, що дало заголовну сполуку (50.4 г, 87 %). +EPI (M+H) 474.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.32 (d, J=9.38 Гц, 6 H), 5.11 (s, 2 H), 4.24 (s, 1 H), 3.58-3.84 (m, 2 H), 3.16-3.41 (m, 2 H), 2.67-2.91 (m, 2 H), 1.80 (br. s., 1 H), 1.61-1.76 (m, 11 H), 1.52-1.61 (m, 1 H).

Етап 5. бензил 1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-1'-карбоксилат

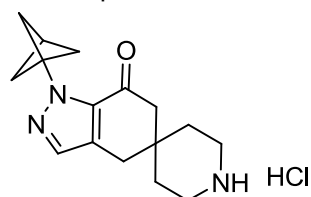


До розчину бензил 6-бromo-1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-1'-карбоксилату (50.4 г, 106 ммол) у тетрагiдрофуранi (600 мл), додавали насичений водн. амонiй хлорид (600 мл) та порошок цинку (20.8 г, 319 ммол). Реакцiю перемiшували протягом 30 хвил. при кiмнатній температурi. Реакцiю фiльтрували через Целiт®. Фази фiльтрату вiдокремлювали, та органiчну фазу промивали водою та насиченим водн. натрiй хлоридом. Органiчні сушили над магнiй сульфатом, фiльтрували, та концентрували для отримання пiни. Пiну розтирали один раз з етилацетатом / гептанами та один раз з диетилетером, що дало заголовну сполуку (40.4 г, 96 %) як бiлу тверду речовину. +EPI (M+H) 396.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.24-7.38 (m, 6 H), 5.11 (s, 2 H), 3.36-3.61 (m, 4 H), 2.74 (s, 2 H), 2.54 (s, 2 H), 1.64 (s, 9 H), 1.51 (br. s., 4 H).

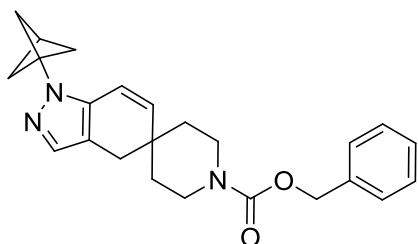
Етап 6. 1-трет-бутил-4,6-дигiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-7(1H)-он

Розчин бензил 1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-1'-карбоксилату (46.6 г, 118 ммол) в етанолi (730 мл) додавали до 10 % паладiю на вугiллі (9.4 г). До цiєї сумiшi додавали 1-метил-1,4-циклогексидiєн (90 мл, 769 ммол). Реакцiю перемiшували пiд зворотним холодильником протягом 2 год. Реакцiю охолоджували до кiмнатної температури та фiльтрували через Целiт®. Фiльтрат концентрували у вакуумi, що дало сiру тверду речовину. Тверду речовину розчиняли в етилацетатi (150 мл), та до цього розчину додавали 4 М хлоридну кислоту в 1,4-дiоксанi (35 мл). Отриманий осад збирали фiльтруванням та сушили пiд вакуумом, що дало заголовну сполуку (34 г, 97 %) як бiлу тверду речовину. +EPI (M+H) 262.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 7.34 (s, 1 H) 3.12-3.25 (m, 4 H) 2.90 (s, 2 H) 2.66 (s, 2 H) 1.67-1.85 (m, 4 H) 1.62 (s, 9 H).

Інтермедіат 5: 1-(бiцикло[1.1.1]пентан-1-iл)-4,6-дигiдроспiро[iндазол-5,4'-пiперидин]-7(1H)-он гiдрогенхлорид, показаний нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1: бензил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат

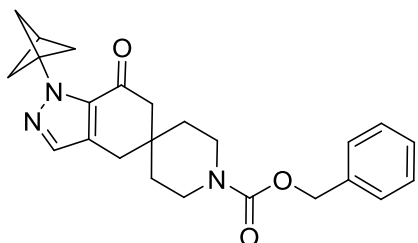


До розчину бензил 9-оксо-3-азаспіро[5.5]ундец-7-ен-3-карбоксилату (543 мг, 1.81 ммол) у толуолі (15 мл) додавали трис(диметилміно)метан (0.47 мл, 2.7 ммол). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом 4 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (50 мл), та промивали водою (50 мл). Органічний шар сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Отриману жовту олію брали в толуолі (15 мл) та додавали біцикло[1.1.1]пентан-1-ілгідразин гідрогенхлорид (310 мг, 1.81 ммол). Суміш нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом 18 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (50 мл), промивали водою (50 мл) та 1 М водн. лимонною кислотою (50 мл). Органічний шар сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці, що дало 2 регіоізотричні продукти.

бензил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (365 мг, 52 %): +XIAT (M+H) 390.5;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.33-7.36 (m, 5 H), 7.22 (s, 1 H), 6.51 (d, J=10.1 Гц, 1 H), 5.81 (d, J=9.9 Гц, 1 H), 5.12 (s, 2 H), 3.42-3.59 (m, 4 H), 2.59 (s, 3 H), 2.35 (s, 6 H), 1.43-1.68 (m, 4 H).

бензил 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат (85 мг, 12 %): +XIAT (M+H) 390.5;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.33-7.36 (m, 5 H), 7.08 (d, J=0.8 Гц, 1 H), 6.56 (d, J=10.0 Гц, 1 H), 5.91 (d, J=10.0 Гц, 1 H), 5.12 (s, 2 H), 3.40-3.62 (m, 4 H), 2.57 (s, 3 H), 2.26 (s, 6 H), 1.41-1.68 (m, 4 H).

Етап 2: бензил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилат



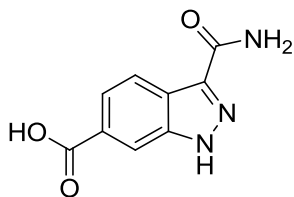
До розчину бензил 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-карбоксилату (340 мг, 0.87 ммол) у 3:1 тетрагідрофурані: воді (10 мл) додавали N-бромосукцинімід (155 мг, 0.87 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 45 хвил. Реакцію розбавляли етилацетатом (50 мл), промивали 0.5 N водн. натрій гідроксидом (25 мл) та насиченим водн. натрій тіосульфатом (25 мл). Органічний шар сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Отриману олію брали в дихлорометані (5 мл) та обробляли активованими 4A молекулярними ситами (500 мг) та тетраапропіламоній перрутеном (16 мг, 0.04 ммол). Кашку обробляли N-метилморфолін-N-оксидом (243 мг, 1.75 ммол) в ацетонітрилі (5 мл). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Реакцію фільтрували через Целіт та фільтрат концентрували. Осад очищали флеш-хроматографією на колонці (7-60 % етилацетат / гептани), що дало чисту олію. Олію брали в тетрагідрофурані (5 мл) та обробляли насиченим водн. амоній хлоридом (5 мл) та пилом цинку (171 мг, 2.62 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвил. Реакцію розбавляли водою (50 мл) та екстрагували етилацетатом (2 × 30 мл). Комбіновані Органічні промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (7-60 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (148 мг, 42 %) як білу тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.34 (m, 6 H), 5.13 (s, 2 H), 3.51 (m, 4 H), 2.75 (s, 2 H), 2.59 (s, 1 H), 2.54 (s, 2 H), 2.41 (s, 6 H), 1.56 (m, 4 H).

Етап 3: 1-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он гідрогенхлорид

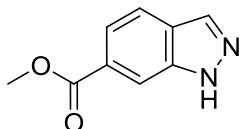
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 6 для інтермедіату

4.

Інтермедіат 6: 3-карбамоіл-1H-індазол-6-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

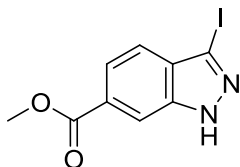
5

Етап 1. метил 1H-індазол-6-карбоксилат



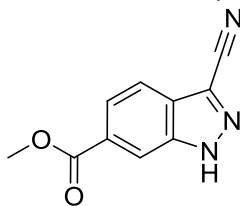
До розчину 1H-індазол-6-карбонової кислоти (3.00 г, 18.5 ммол) у N, N-диіметилформаміді (46 мл) додавали натрій карбонат (2.06 г, 19.4 ммол), а потім – краплями іодометан (2.75 г, 1.21 ммол, 19.4 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш заливали в наполовину насичений натрій гідрогенкарбонат та екстрагували етилацетатом три рази. Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі, що дало коричневу олію. Цей осад очищали флеш-хроматографією на колонці (12-100 % етилацетат / гептани), що дало метил 1H-індазол-6-карбоксилат як жовту тверду речовину (2.95 г, 90 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 10.40 (br. s., 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.84 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.79 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 3.96 (s, 3 H).

Етап 2. метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилат



До розчину метил 1H-індазол-6-карбоксилату (865 мг, 4.91 ммол) у N, N-диіметилформаміді (12 мл) додавали калій гідроксид (840 мг, 3.05 ммол), а потім – іод (1.54 г, 5.9 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 год. Додавали натрій гідрогенсульфат (30 мл 5 % водн.), та суміш екстрагували етилацетатом двічі. Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі. Осад очищали на флеш-хроматографічній колонці (5-65 % етилацетат / гептани), що дало метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилат як безбарвну тверду речовину (1.16 г, 78 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.84 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.72 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.54 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 3.87 (s, 3 H).

Етап 3. метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилат



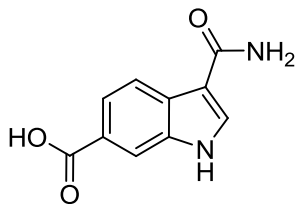
Суміш метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилату (3.0 г, 9.9 ммол), пилу цинку (400 мг, 6.11 ммол), цинк ціаніду (2.0 г, 17.0 ммол), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлоропаладію(II), комплексу з дихлорометаном (1.15 г, 1.41 ммол), та купрум (I) іодиду (1.90 г, 9.97 ммол) у диметилацетаміді (55 мл) очищали азотом протягом 15 хвил. Суміш перемішували при 120 °C протягом 15 год. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли етилацетатом (250 мл), та фільтрували через Целіт, промиваючи етилацетатом (100 мл). До фільтрату додавали ~400 мл розчину насиченого водн. амоній хлориду та концентрованого амоній гідроксиду (отриманого додаванням амоній гідроксид до насиченого водн. розчину амоній хлориду до pH=8). Суміш перемішували протягом 1 год. Тоді шари відокремлювали. Органічний шар промивали водою та розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі. До осаду додавали метанол (40 мл), та суміш перемішували протягом ночі. Суміш фільтрували, та тверду речовину сушили у вакуумі, що дало метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилат як рудувато-коричневу тверду речовину (1.47 г, 73 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.40 (br. s., 1 H), 8.25

(s, 1 H), 7.94 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 7.83 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

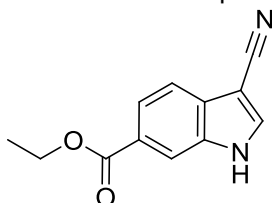
Етап 4. 3-карбамоіл-1H-індазол-6-карбонова кислота

До розчину метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилату (254 мг, 1.26 ммол) у метанолі (12 мл) при 0 °С додавали холодний розчин сечовини гідроген пероксиду (1.22 г, 12.6 ммол) у натрій гідроксиді (12.6 мл 1М у воді, 12.6 ммол). Жовтий розчин перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрували у вакуумі для видалення метанолу. рН отриманого осаду регулювали, приблизно, до 4 1N хлоридною кислотою. Утворювався осад. Суміш фільтрували та тверду речовину сушили, що дало 3-карбамоіл-1H-індазол-6-карбонову кислоту як коричневу тверду речовину (82 мг, 32 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 13.84 (s, 1 H), 13.04 (br. s., 1 H), 8.20 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 8.13-8.16 (m, 1 H), 7.77 (br. s., 1 H), 7.74 (dd, J=8.6, 1.4 Гц, 1 H), 7.38 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 7: 3-карбамоіл-1H-індол-6-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1. етил-естер 3-ціано-1H-індол-6-карбонової кислоти

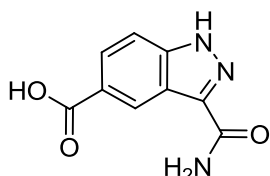


До розчину 6-бромо-1H-індол-3-карбонітрилу (328 мг, 1.48 ммол) в етанолі (5 мл) у 500 мл склянці Парра додавали натрій ацетат (370 мг, 4.47 ммол) та [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]дихлоропаладій(II), комплекс із дихлорометаном (242 мг, 0.297 ммол). Реакційну склянку очищали азотом та вакуумували три рази, і тоді наповнювали карбон монооксидом – 30 фунтів на квадратний дюйм. Реакційну суміш нагрівали до 70 °С, підвищуючи тиск у склянці до 45 фунтів на квадратний дюйм. Реакцію струшували при 70 °С протягом 24 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури. Суміш фільтрували через Целіт, промиваючи етанолом. Фільтрат концентрували під зниженим тиском та розбавляли дихлорометаном. Отримані тверді відфільтровували та фільтрат концентрували. Осад очищали флеш-хроматографією на колонці (20-80 % етилацетат / гептани), що дало 3-ціано-1H-індол-6-карбонової кислоти етил-естер (142 мг, 45 %). -XIAT (M-H) 213.4; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.50 (br. s., 1 H), 8.45 (s, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.82 (dd, J=8.4, 1.4 Гц, 1 H), 7.73 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 4.32 (q, J=7.0 Гц, 2 H), 1.33 (t, J=7.0 Гц, 3 H).

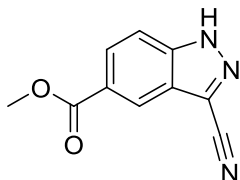
Етап 2. 3-карбамоіл-1H-індол-6-карбонова кислота

Суспензію 3-ціано-1H-індол-6-карбонової кислоти етилестеру (100 мг, 1.4 ммол) у метанолі (1.12 мл) додавали до розчину сечовини гідроген пероксиду (453 мг, 4.67 ммол) у 2.5 М натрій гідроксиді (1.12 мл, 2.80 ммол) при 0 °С. Суспензії дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Реакцію концентрували під зниженим тиском. Додавали воду, та розчин підкислювали 3 N водн. хлоридною кислотою до рН=2. Утворювався осад. Реакційну суміш перемішували протягом 1 хвил. при кімнатній температурі й тоді фільтрували, що дало оранжеву тверду речовину. Додавали додатково сечовину гідроген пероксид (453 мг) у 2.5 М натрій гідроксиді та метанолі, та суміш перемішували протягом 2 год. Реакцію концентрували, розбавляли водою, підкислювали до рН=3 та фільтрували. Тверду речовину промивали водою та гептанами, і сушили у вакуумній печі, що дало 3-карбамоіл-1H-індол-6-карбонову кислоту як тверду речовину (66.5 мг, 70 %). -EPI (M-1) 203.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.45 (br. s., 1 H), 11.78 (br. s., 1 H), 8.83 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 8.09 (d, J=2.9 Гц, 1 H), 7.73 (dd, J=8.6, 1.8 Гц, 1 H), 7.51 (br. s., 1 H), 7.45 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 6.89 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 8: 3-карбамоіл-1H-індазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1. метил 3-ціано-1H-індазол-5-карбоксилат

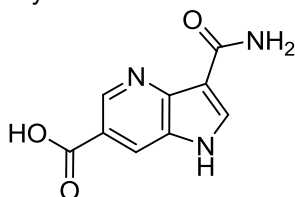


Метил 3-іодо-1H-індазол-5-карбоксилат (30.7 г, 102 ммол), цинк ціанід (20.3 г, 173 ммол),  
 5 пил цинку (4.05 г, 61.9 ммол), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлоропаладій(II), комплекс  
 із дихлорометаном (12 г, 15 ммол) та купрум (I) іодид (19.7 г, 103 ммол) поєднували в 1 л  
 круглодонній колбі. Додавали N, N-диметилацетамід (500 мл), та реакційну суміш очищали  
 азотом протягом 10 хвил. Реакцію нагрівали до 120 °C протягом 1 год. Реакцію охолоджували  
 до кімнатної температури та розбавляли етилацетатом (1 л) і перемішували протягом 20 хвил.  
 10 Реакційну суміш фільтрували через прокладку целіту, промиваючи 500 мл етилацетату.  
 Фільтрат додавали до розчину насиченого амоній хлориду та концентрованого амоній  
 гідроксиду (2 л) (отриманого додаванням амоній гідроксиду до насиченого водного розчину  
 амоній хлориду до pH=8) та двофазовий розчин перемішували енергійно протягом 1 год.  
 Отриману емульсію фільтрували через малу прокладку целіту. Шари відокремлювали та водне  
 15 екстрагували додатково два рази етилацетатом (1.1 л), кожний раз фільтруючи отриману  
 емульсію через целіт. Комбіновані органічні шари промивали водою (2 × 900 мл) та розсолем  
 (900 мл), сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. До сирого додавали  
 метанол (100 мл), та суміш перемішували протягом 20 хвил. Отриманий осад відфільтровували  
 та промивали метанолом (10 мл). Фільтрат концентрували, що дало заголовну сполуку (13.2 г,  
 20 65 %) як тверду речовину. -EPI (M-H) 200.0; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 8.43-8.45 (m, 1 H),  
 8.05 (dd, J=8.8, 1.6 Гц, 1 H), 7.85 (dd, J=8.9, 0.9 Гц, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

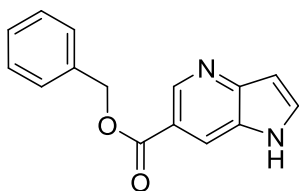
Етап 2. 3-карбамоіл-1H-індазол-5-карбонова кислота

Суспензію метил 3-ціано-1H-індазол-5-карбоксилату (50.0 г, 249 ммол) у метанолі (1 л)  
 охолоджували до 10 °C. Додавали краплями розчин сечовини гідроген пероксиду (241 г, 2.49  
 25 мол) у натрій гідроксиді (1 л 2.5 N) та воді (100 мл), утримуючи внутрішню температуру нижче  
 25 °C. Після закінчення додавання льодяну баню видаляли та реакцію перемішували при  
 кімнатній температурі протягом 16 год. Спостерігали малу кількість непрореагованого вихідного  
 матеріалу способом ВЕРХ. Реакцію охолоджували до 15 °C та додавали порціями додатково  
 сечовину гідроген пероксид (50 г). Відзначали енергійне утворення бульок. Реакцію  
 30 перемішували ще 2 год. Сирі продукти реакції фільтрували для видалення присутніх твердих, та  
 фільтрат концентрували для видалення метанолу. Розчин, що залишився, охолоджували в  
 льодяній бані, та краплями додавали 6 N хлоридну кислоту (420 мл) до pH 4. Розчин  
 перемішували протягом 20 хвил., і отриману рудувато-коричневу тверду речовину збирали  
 фільтруванням та сушили, що дало 57.2 г сирого продукту. До сирого додавали ацетонітрил  
 35 (700 мл) та дихлорометан (700 мл), і суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1  
 год. Тверду речовину збирали фільтруванням, промивали 1:1 ацетонітрилом: дихлорометаном  
 (400 мл) та сушили, що дало заголовну сполуку (39.5 г, 77 %) як рудувато-коричневу тверду  
 речовину. +EPI (M+H) 206.1; <sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.81 (s, 1 H), 12.85 (br. s., 1 H), 8.82 (d, J=0.8  
 Гц, 1 H), 7.93 (dd, J=8.8, 1.6 Гц, 1 H), 7.79-7.85 (m, 1 H), 7.64 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 7.44 (s, 1 H).

40 Інтермедіат 9: 3-карбамоіл-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбонову кислоту, показану нижче,  
 отримували як показано нижче:

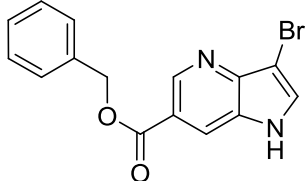


Етап 1. бензил 1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилат



До розчину 1H-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбонової кислоти (1.37 г, 8.45 ммол) у N, N-диіметилформаміді (55 мл) додавали цезій карбонат (2.79 г, 8.56 ммол) та бензил бромід (1.05 мл, 8.64 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 17 год. Додатково додавали цезій карбонат (500 мг, 1.54 ммол) та бензил бромід (0.186 мл, 1.53 ммол), і реакцію перемішували ще 4 год. Тоді реакцію гасили водою та розбавляли етилацетатом. Шари відокремлювали, та водне екстрагували етилацетатом три рази. Комбіновані органічні промивали водою та розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-100 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (1.42 г, 67 %). +EPI (M+H) 253.3; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 11.68 (br. s., 1 H), 8.93 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.33 (dd, J=2.0, 1.0 Гц, 1 H), 7.93 (t, J=3.0 Гц, 1 H), 7.51 (m, 2 H), 7.41 (m, 3 H), 6.68 (ddd, J=3.1, 2.0, 1.0 Гц, 1 H), 5.40 (s, 2 H).

Етап 2. бензил 3-бромо-1H-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбоксилат

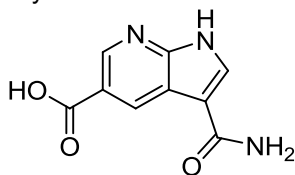


До розчину при 0 °C бензил 1H-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбоксилату (830 мг, 3.29 ммол) у N, N-диіметилформаміді (19 мл) додавали N-бромосукцинімід (609 мг, 3.42 ммол). Реакції дозволяли поступово нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом вихідних днів. Реакцію розбавляли етилацетатом та промивали послідовно насиченим водн. натрій тіосульфатом, насиченим водн. натрій гідрогенкарбонатом, водою та розсоллом. Органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували, що дало заголовну сполуку (1.08 г, кількісні). +EPI (M+1+H) 333.0; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 12.06 (br. s., 1 H), 8.99 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 8.37 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.14 (d, J=2.9 Гц, 1 H), 7.52 (m, 2 H), 7.41 (m, 3 H), 5.41 (s, 2 H).

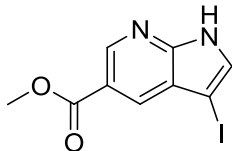
Етап 3. 3-карбамоіл-1H-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбонова кислота

Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному на етапах 3-4 для інтермедіату 6, застосовуючи бензил 3-бромо-1H-піроло[3,2-*b*]піридин-6-карбоксилат. +EPI (M+H) 206.2; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 12.76 (br. s., 1 H), 8.92 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 8.54-8.64 (m, 2 H), 8.17 (br. s., 1 H), 7.51 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 10: 3-карбамоіл-1H-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

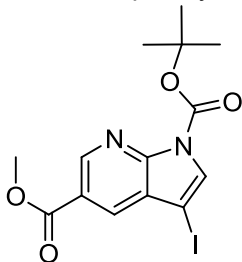


Етап 1. метил 3-іодо-1H-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбоксилат



До розчину метил 1H-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбоксилату (2.97 г, 14.0 ммол) у N, N-диіметилформаміді (30 мл) додавали калій карбонат (5.79 г, 41.9 ммол). Тоді краплями додавали йод (3.90 г, 15.4 ммол) у N, N-диіметилформаміді (5.0 мл), і реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Тоді до реакційної суміші додавали воду (150 мл), отримуючи створення осаду. Повільно додавали розчин натрій бісульфіту (5.79 г, 41.9 ммол) у воді (50 мл), та суміш перемішували протягом 1 год. Отриману тверду речовину фільтрували та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (3.07 г, 73 %). +EPI (M+H) 303.0; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 12.53 (br. s., 1 H), 8.79 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.15 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 3.88 (s, 3 H).



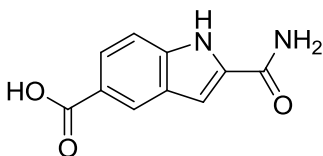
Етап 2. 1-трет-бутил 5-метил 3-іодо-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1,5-дикарбоксилат

До суміші метил 3-іодо-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбоксилату (700 мг, 2.32 ммол) у дихлорометані (10 мл) та тетрагідрофурані (10 мл) додавали *N*, *N*-діізопропілетиламін (1.21 мл, 6.95 ммол), ди-трет-бутилгідрогенкарбонат (607 мг, 2.78 ммол), та 4-диметиламінопіридин (28 мг, 23 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Реакцію концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці (0-50 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (760 мг, 82 %) як тверду речовину. +ХІАТ (М+Н) 403.3; <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 8.93 (d, J=2.0 Гц, 1 Н), 8.16 (d, J=2.0 Гц, 1 Н), 8.14 (s, 1 Н), 3.91 (s, 3 Н), 1.59 (s, 9 Н).

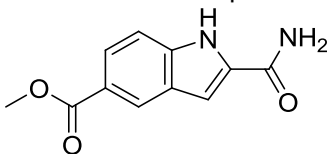
Етап 3. 3-карбамоіл-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-5-карбонова кислота

Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному на етапах 3-4 для інтермедіату 6, застосовуючи 1-трет-бутил 5-метил 3-іодо-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1,5-дикарбоксилат. -ХІАТ (М-Н) 204.4.

Інтермедіат 11: 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



## Етап 1. метил 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбоксилат

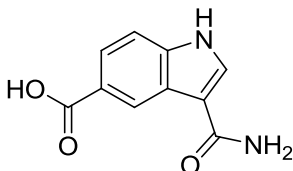


До розчину 5-(метоксикарбоніл)-1Н-індол-2-карбонової кислоти (2.50 г, 11.4 ммол) у тетрагідрофурані (20 мл) додавали 1,1-карбонілдіімідазол (3.70 г, 22.8 ммол). Жовту суспензію перемішували протягом 2 год. Тоді додавали концентрований амоній гідроксид (20 мл), та суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 год. Блідо-зелену суспензію фільтрували, промивали водою та 5 мл метанолу й сушили на повітрі, що дало метил 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбоксилат (2.04 г, 82 %) як безбарвну тверду речовину. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 11.93 (br. s., 1 Н), 8.32 (d, J=1.2 Гц, 1 Н), 8.06 (br. s., 1 Н), 7.79 (dd, J=8.6, 1.6 Гц, 1 Н), 7.48 (d, J=8.6 Гц, 1 Н), 7.45 (br. s., 1 Н), 7.27 (s, 1 Н), 3.32 (s, 3 Н).

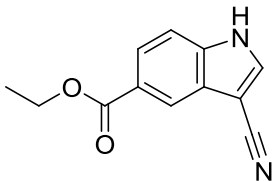
## Етап 2. 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбонова кислота

До суспензії метил 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбоксилату (300 мг, 1.38 ммол) у тетрагідрофурані (4.5 мл) та етиленгліколі (4.5 мл) додавали калій гідроксид (3.16 г, 56.4 ммол). Суміш нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом 2 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розбавляли водою. Тетрагідрофуран видаляли під зниженим тиском. Тверді відфільтровували та фільтрат підкислювали до рН 4 концентрованою хлоридною кислотою. Отриманий осад збирали фільтруванням та сушили під вакуумом, що дало 2-карбамоіл-1Н-індол-5-карбонову кислоту (230 мг, 82 %). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>, δ): 12.53 (br. s., 1 Н), 11.88 (br. s., 1 Н), 8.28 (s, 1 Н), 8.04 (br. s., 1 Н), 7.77 (d, J=8.6 Гц, 1 Н), 7.46 (m, J=8.6 Гц, 2 Н), 7.25 (s, 1 Н).

Інтермедіат 12: 3-карбамоіл-1Н-індол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



## Етап 1. етил 3-ціано-1H-індол-5-карбоксилат

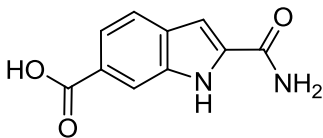


До розчину 5-бромо-1H-індол-3-карбонітрилу (2.61 г, 11.8 ммол) в етанолі (50 мл) у 500 мл склянці Парра додавали натрій ацетат (2.90 г, 35.6 ммол) та комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій (II) дихлорид дихлорометан (1.93 г, 2.36 ммол). Реакційну суміш вакуумували та знов наповнювали азотом три рази. Реакційну склянку тоді піддавали тиску карбон монооксиду при 25 фунтах на квадратний дюйм. Реакцію нагрівали до 70 °С, та коли досягали бажаної температури, тиск у склянці підвищували до 40 фунтів на квадратний дюйм. Реакційну суміш струшували при 70 °С протягом 24 год. Суміш фільтрували через Целіт, промиваючи етанолом. Фільтрат концентрували під зниженим тиском, і тоді розбавляли дихлорометаном. Суміш фільтрували для видалення нерозчинних твердих. Фільтрат концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці (20-80 % етилацетат / гептани). Отриману тверду речовину розтирали з дихлорометаном та малою кількістю гептанів, що дало етил 3-ціано-1H-індол-5-карбоксилат (1.05 г, 41 %) <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.54 (br. s., 1 H), 8.41 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 8.25 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 7.89 (dd, J=8.6, 1.6 Гц, 1 H), 7.66 (dd, J=8.6, 0.6 Гц, 1 H), 4.34 (q, J=7.0 Гц, 2 H), 1.35 (t, J=7.1 Гц, 3 H).

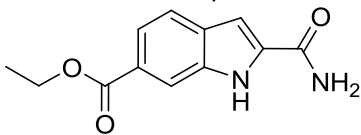
## Етап 2. 3-карбамоіл-1H-індол-5-карбонова кислота

Розчин етил 3-ціано-1H-індол-5-карбоксилату (1.05 г, 4.89 ммол) у метанолі (12 мл) додавали до 0 °С розчину сечовини гідроген пероксиду (4.74 г, 48.9 ммол) та натрій гідроксиду (11.7 мл 2.5 М розчину у воді, 29.3 ммол). Суміш дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Додавали додатково 2 мл 2.5 М розчину натрій гідроксиду та реакцію перемішували 4 год. Суміш концентрували та підкислювали до рН 2, застосовуючи 6 М хлоридну кислоту. Отриманий осад відфільтровували та сушили під вакуумом при 60 °С, що дало заголовну сполуку (915 мг, 92 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.46 (br. s., 1 H), 11.84 (s, 1 H), 8.85 (s, 1 H), 8.12 (d, J=2.5 Гц, 1 H), 7.75 (dd, J=8.6, 1.6 Гц, 1 H), 7.50-7.63 (m, 1 H), 7.47 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 6.88 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 13: 2-карбамоіл-1H-індол-6-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



## Етап 1. етил 2-карбамоіл-1H-індол-6-карбоксилат

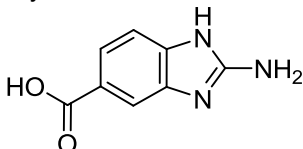


Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 1 для інтермедіату 12, застосовуючи 6-бромо-1H-індол-2-карбоксамід. +EPI (M+H) 233.2; <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 11.92 (s, 1 H), 8.07 (s, 2 H), 7.65-7.71 (m, 1 H), 7.57-7.63 (m, 1 H), 7.49 (br. s., 1 H), 7.17 (dd, J=2.1, 1.0 Гц, 1 H), 4.30 (q, J=7.1 Гц, 2 H), 1.31 (t, J=7.1 Гц, 3 H).

## Етап 2. 2-карбамоіл-1H-індол-6-карбонова кислота

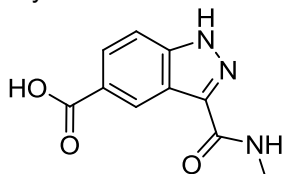
До розчину етил 2-карбамоіл-1H-індол-6-карбоксилату (3.3 г, 14 ммол) у метанолі (50 мл) додавали 1 N водн. натрій гідроксид (71 мл, 71 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 17 год. Тоді реакцію підкислювали до рН 2-3, застосовуючи 6 N водн. хлоридну кислоту. Отриманий осад збирали фільтруванням та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (2.97 г, 100 %). -XIAT (M-H) 203.4.

Інтермедіат 14: 2-аміно-1H-бензо[d]імідазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

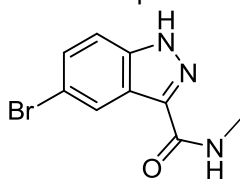


Розчин ціаністого броміду (5.0 мл, 5 М в ацетонітрилі, 25 ммол) додавали до суміші метил 3,4-діамінобензоату (3.0 г, 18 ммол) у воді (50 мл). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Водний аміак (20 мл) та етилацетат (100 мл) додавали до реакційної суміші та шари відокремлювали. Органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. До сирого осаду додавали 2 N водн. хлоридну кислоту (18 мл, 36.0 ммол), та суміш нагрівали під зворотним холодильником протягом ночі. Реакцію концентрували, що дало заголовну сполуку (2.90 г, 97 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 8.75 (s, 2 H), 7.84 (s, 1 H), 7.77 (dd,  $J=1.2$  Гц,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 7.38 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H).

Інтермедіат 15: 3-(метилкарбамоіл)-1H-індазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

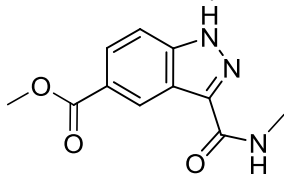


Етап 1. 5-бромо-N-метил-1H-індазол-3-карбоксамід



До розчину 5-бромо-1H-індазол-3-карбонової кислоти (1.2 г, 5.0 ммол) у N, N-диіметилформаміді (20 мл) додавали метиламін (5 мл, 2 М у тетрагідрофурани, 10 ммол), 1, (3-диметиламінопропіл)-3-етил карбодіїмід гідрогенхлорид (1.4 г, 7.5 ммол), 1-гідроксибензотриазол гідрат (1.2 г, 7.5 ммол) та N-метилморфолін (1.0 г, 10 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці, що дало заголовну сполуку (0.71 г, 56 %) як безбарвну тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 13.8 (br. s., 1 H), 8.41 (m, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 7.60 (d,  $J=8.8$  Гц, 1 H), 7.51-7.54 (m, 1 H), 2.80 (d,  $J=4.8$  Гц, 3 H).

Етап 2. метил 3-(метилкарбамоіл)-1H-індазол-5-карбоксилат

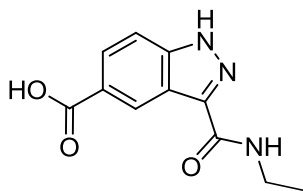


До розчину 5-бромо-N-метил-1H-індазол-3-карбоксаміду (710 мг, 2.8 ммол) у безводному метанолі (20 мл) додавали комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій (II) дихлорид дихлорометан (400 мг, 0.56 ммол) та N-метилморфолін (565 мг, 5.60 ммол). Реакційну склянку вакуумували та знов наповнювали азотом три рази. Тоді склянку наповнювали карбон монооксидом при 30 фунтах на квадратний дюйм. Реакційну суміш нагрівали до 70 °C, підвищуючи тиск у склянці до 45 фунтів на квадратний дюйм. Реакцію струшували при 70 °C протягом 24 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через Целіт, промиваючи метанолом. Фільтрат концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці, що дало заголовну сполуку (410 мг, 61 %) як коричневу тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 13.9 (s, 1 H), 8.88 (s, 1 H), 8.49 (d,  $J=4.8$ , 1 H), 7.95-7.98 (m, 1 H), 7.68-7.70 (m, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 2.82 (d,  $J=4.8$  Гц, 3 H).

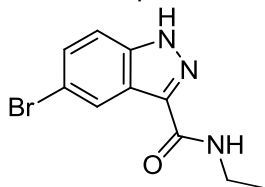
Етап 3. 3-(метилкарбамоіл)-1H-індазол-5-карбонова кислота

До розчину метил 3-(метилкарбамоіл)-1H-індазол-5-карбоксилату (400 мг, 1.7 ммол) у метанолі (10 мл) та воді (10 мл) додавали літій гідроксид моногідрат (0.36 г, 8.5 ммол). Реакцію нагрівали до 60 °C та перемішували протягом ночі. Метанол видаляли під зниженим тиском та залишений осад підкислювали до pH=4 1 N водн. хлоридною кислотою. Отриманий осад збирали фільтруванням та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (350 мг, 94 %) як жовту тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 13.99 (s, 1 H), 8.85 (s, 1 H), 8.47-8.48 (m, 1 H), 7.94-7.96 (m, 1 H), 7.65-7.68 (m, 1 H), 2.82 (d,  $J=4.4$  Гц, 3 H).

Інтермедіат 16: 3-(етилкарбамоіл)-1H-індазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

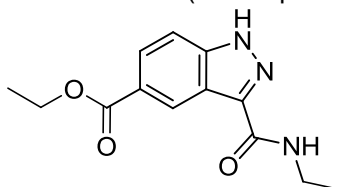


Етап 1. 5-бромо-N-етил-1H-індазол-3-карбоксамід



До розчину 5-бромо-1H-індазол-3-карбонової кислоти (1.2 г, 5.0 ммол) у дихлорометані (20 мл) додавали оксалілхлорид (1.26 г, 10 ммол) та 1 краплю N, N-диіметилформаміду. Суміш перемішували при кімнатній температурі під атмосферою азоту протягом ночі. Реакцію концентрували та осад розчиняли в дихлорометані (20 мл). Додавали краплями етиламін (1.1 г, 25 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 4 год. Реакційну суміш концентрували для отримання заголовної сполуки (1.27 г). +EPI (M+H<sup>+</sup>) 270.9.

Етап 2. етил 3-(етилкарбамоїл)-1H-індазол-5-карбоксилат

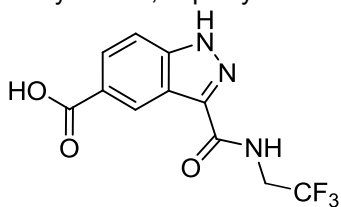


До розчину 5-бромо-N-етил-1H-індазол-3-карбоксаміду (1.1 г, 4.1 ммол) в етанолі (50 мл) додавали триетиламін (1.24 г, 12.3 ммол) та комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій (II) дихлорид дихлорометан (300 мг, 0.41 ммол). Реакційну склянку вакуумували та знов наповнювали азотом три рази. Склянку наповнювали карбон монооксидом при тиску 50 фунтів на квадратний дюйм, нагрівали до 80 °C та струшували протягом 24 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та фільтрували на Целіті. Фільтрат концентрували коричневого осаду. Осад розбавляли етилацетатом (100 мл) та промивали послідовно 1 N хлоридною кислотою, насиченим водн. натрій гідрокарбонатом та розсолем. Органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували, що дало заголовну сполуку (0.88 г, 82 %) як коричневу тверду речовину. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.87 (s, 1 H), 8.88 (s, 1 H), 8.54-8.57 (m, 1 H), 7.96-7.98 (m, 1 H), 7.68-7.70 (m, 1 H), 4.32-4.37 (m, 2 H), 3.33-3.37 (m, 2 H), 1.35 (t, 3 H), 1.22 (t, 3 H).

Етап 3. 3-(етилкарбамоїл)-1H-індазол-5-карбонова кислота

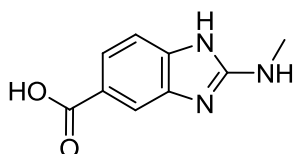
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 3 для інтермедіату 15. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.83 (s, 1 H), 12.91 (br. s., 1 H), 8.86 (s, 1 H), 8.51-8.54 (m, 1 H), 7.95-7.97 (m, 1 H), 7.65-7.68 (m, 1 H), 3.30-3.36 (m, 2 H), 1.12-1.16 (t, 3 H).

Інтермедіат 17: 3-(2,2,2-трифлуороетилкарбамоїл)-1H-індазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

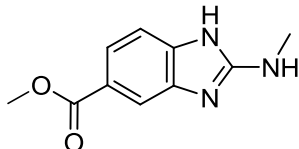


Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному для інтермедіату 16, застосовуючи 2,2,2-трифлуороетиламін в етапі 1. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 14.04 (s, 1 H), 13.0 (br. s., 1 H), 9.12-9.15 (m, 1 H), 8.83 (s, 1 H), 7.97-7.99 (m, 1 H), 7.69-7.72 (m, 1 H), 4.04-4.13 (m, 2 H).

Інтермедіат 18: 2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1. метил 2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-5-карбоксилат



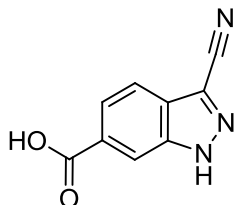
Суміш 3,4-діамінобензойної кислоти (15 г, 0.09 мол) та ізотіоціанатометану (6.6 г, 0.09 мол) розчиняли в тетрагідрофурані (90 мл). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником протягом 3 год. і тоді концентрували. Осад заливали в льодяну воду. Отриманий осад фільтрували, промивали водою, та сушили під вакуумом, що дало метил 4-аміно-3-(3-метилтіосечовина)бензоат (12.0 г, 56 %).

До твердої речовини (12 г, 0.05 мол) додавали етанол (200 мл), а потім – метиліодид (35.5 г, 0.25 мол). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом ночі. Реакцію концентрували, та осад підлужували амоній гідроксидом. Тверді збирали фільтруванням та промивали водою. Очищали на хроматографічній колонці (9-25 % етилацетатом / петролейним етером), що дало заголовну сполуку (2.9 г, 28 %) як жовту тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 8.37 (s, 1 H), 7.92-7.96 (m, 1 H), 7.51 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 3.93 (s, 3 H), 2.81 (s, 3 H).

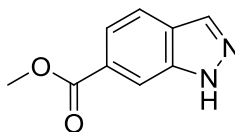
Етап 2. 2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-5-карбонова кислота

3 N Водну хлоридну кислоту (14 мл, 42 ммол) додавали до метил 2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-5-карбоксилату (2.9 г, 14 ммол), і реакцію перемішували під зворотним холодильником протягом ночі. Реакцію концентрували, що дало заголовну сполуку (2.4 г, 90 %) як жовту тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 7.96-8.00 (m, 2 H), 7.40 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 3.10 (s, 3 H).

Інтермедіат 19: 3-ціано-1H-індазол-6-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

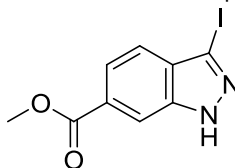


Етап 1: метил 1H-індазол-6-карбоксилат



До розчину 1H-індазол-6-карбонової кислоти (3.00 г, 18.5 ммол) у N, N-диіметилформаміді (46 мл) додавали натрій карбонат (2.06 г, 19.4 ммол), а потім – краплями іодометан (2.75 г, 1.21 мл, 19.4 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш заливали в наполовину насичений натрій гідрогенкарбонат та екстрагували етилацетатом три рази. Комбіновані органічні шари промивали розсолем, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі, що дало коричневу олію. Цей осад очищали флеш-хроматографією на колонці (12-100 % етилацетат / гептани), що дало метил 1H-індазол-6-карбоксилат як жовту тверду речовину (2.95 г, 90 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 10.40 (br. s., 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.84 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 7.79 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 3.96 (s, 3 H).

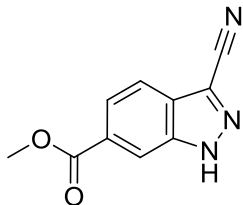
Етап 2: метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилат



До розчину метил 1H-індазол-6-карбоксилату (865 мг, 4.91 ммол) у N, N-диіметилформаміді

(12 мл) додавали калій гідроксид (840 мг, 3.05 ммол), а потім – іод (1.54 г, 5.9 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 год. Додавали натрій гідрогенсульфат (30 мл 5 % водн.), та суміш екстрагували етилацетатом двічі. Комбіновані органічні шари промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі. Осад очищали на флеш-хроматографічній колонці (5-65 % етилацетат / гептани), що дало метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилат як безбарвну тверду речовину (1.16 г, 78 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 13.84 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.72 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 7.54 (d,  $J=8.6$  Гц, 1 H), 3.87 (s, 3 H).

Етап 3: метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилат

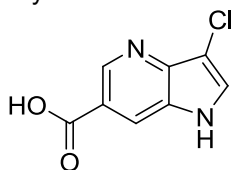


Суміш метил 3-іодо-1H-індазол-6-карбоксилату (3.0 г, 9.9 ммол), пилу цинку (400 мг, 6.11 ммол), цинк ціаніду (2.0 г, 17.0 ммол), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлоропаладію(II), комплексу з дихлорометаном (1.15 г, 1.41 ммол) та купрум (I) іодиду (1.90 г, 9.97 ммол) у диметилацетаміді (55 мл) очищали азотом протягом 15 хвил. Суміш перемішували при 120 °C протягом 15 год. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли етилацетатом (250 мл) та фільтрували через Целіт, промиваючи етилацетатом (100 мл). До фільтрату додавали, приблизно, 400 мл розчину насиченого водн. амоній хлориду та концентрованого амоній гідроксиду (отриманого додаванням амоній гідроксиду до насиченого водного розчину амоній хлориду до pH=8). Суміш перемішували протягом 1 год. Тоді шари відокремлювали. Органічний шар промивали водою та розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі. До осаду додавали метанол (40 мл), і суміш перемішували протягом ночі. Суміш фільтрували, та тверду речовину сушили у вакуумі, що дало метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилат як рудувато-коричневу тверду речовину (1.47 г, 73 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 13.40 (br. s., 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.94 (d,  $J=8.6$  Гц, 1 H), 7.83 (d,  $J=8.4$  Гц, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

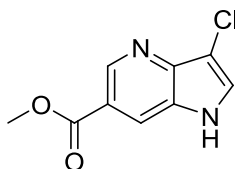
Етап 4: 3-ціано-1H-індазол-6-карбонова кислота

До розчину метил 3-ціано-1H-індазол-6-карбоксилату (1.47 г, 7.31 ммол) у метанолі (36 мл) та тетрагідрофурані (20 мл) додавали 2 N водн. літій гідроксид (16 мл, 32 ммол). Реакцію нагрівали до 50 °C для 72 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували. Осад розбавляли водою та pH регулювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH 4. Отриманий осад відфільтровували, промивали водою та сушили під вакуумом для отримання заголовної сполуки (500 мг, 37 %) як рудувато-коричневої твердої речовини. +EPI (M+N) 188.2.

Інтермедіат 20: 3-хлоро-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1: метил 3-хлоро-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилат

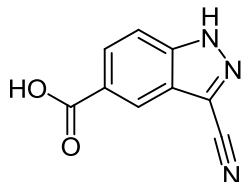


До 0 °C розчину метил 1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилату (1.00 г, 5.68 ммол) у N, N-диіметилформаміді (15 мл) додавали N-хлоросукцинімід (895 мг, 5.96 ммол). Реакції дозволяли поступово нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Реакцію розбавляли водою (125 мл) та перемішували протягом 20 хвил. Отриману тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (1.11 г, 93 %) як оранжевий порошок. +EPI (M+N) 211.0;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 11.99 (br. s., 1 H), 8.92 (d,  $J=2.0$  Гц, 1 H), 8.31 (d,  $J=1.8$  Гц, 1 H), 8.08 (d,  $J=3.1$  Гц, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

Етап 2: 3-хлоро-1Н-піроло[3,2-б]піридин-6-карбонова кислота

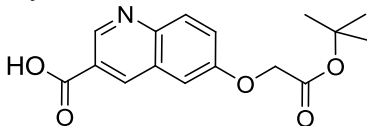
Метил 3-хлоро-1Н-піроло[3,2-б]піридин-6-карбоксилат (1.10 г, 5.22 ммол) суспендували в 1,4-діоксані (25 мл) та додавали 6 N водн. хлоридну кислоту (8.7 мл). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію тоді концентрували, що дало заголовну сполуку (1.2 г, 100 %). +EPI (M+H) 197.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 12.50 (br. s., 1 H), 8.92 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 8.46 (br. s., 1 H), 8.19 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 21: 3-ціано-1Н-індазол-5-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

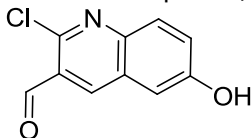


Метил 3-ціано-1Н-індазол-5-карбоксилат (500 мг, 2.5 ммол) розчиняли в метанолі (12 мл) та додавали 2 N водн. літій гідроксид (3.7 мл, 7 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш концентрували для видалення метанол та осад підкислювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH=4. Отриманий жовтий осад збирали фільтруванням, промивали водою та сушили у вакуумній печі для отримання заголовної сполуки (445 мг, 96 %). -EPI (M-H) 186.4; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.17 (br. s., 1H), 8.42 (s, 1H), 8.05 (dd, J=8.8, 1.6 Гц, 1H), 7.83 (d, 1H).

Інтермедіат 22: 6-(2-трет-бутоксипропан-2-илокси)хінолін-3-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:

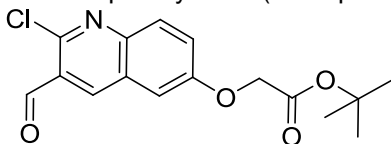


Етап 1: 2-хлоро-6-гідроксихінолін-3-карбальдегід



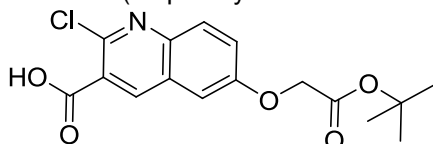
До -78 °C суміші 2-хлоро-6-метоксихінолін-3-карбальдегіду (4.64 г, 20.9 ммол) у дихлорометані (130 мл) додавали бор трибромід (4.0 мл, 42 ммол). Суміші дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом 4 год. Реакцію нейтралізували обережним додаванням насиченого водн. натрій гідрокарбонату. Тоді суміш екстрагували 2-метил-тетрагідрофураном (3 x). Комбіновані органічні фільтрували, та фільтрат промивали насиченим водн. натрій гідрокарбонатом (3 x) та один раз – розсоллом. Органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували до жовтої твердої речовини. Тверду речовину частково розчиняли в 2-метил-тетрагідрофурані та фільтрували. Фільтрат концентрували до твердої речовини та знов частково розчиняли в 2-метил-тетрагідрофурані, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (10-100 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (2.65 г, 61 %) як білу жовту тверду речовину. +EPI (M+H) 208.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 10.54 (s, 1 H), 8.59 (s, 1 H), 7.98 (d, J=9.17 Гц, 1 H), 7.47 (dd, J=9.17, 2.73 Гц, 1 H), 7.25 (d, J=2.93 Гц, 1 H), 5.57 (br. s., 1 H).

Етап 2: трет-бутил 2-(2-хлоро-3-формілхінолін-6-ілокси)ацетат



До розчину 2-хлоро-6-гідроксихінолін-3-карбальдегіду (2.35 г, 11.3 ммол) у N, N-диіметилформаміді (15 мл) додавали трет-бутил 2-бromoацетат (2.0 мл, 13.6 ммол) та калій карбонат (3.13 г, 22.6 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1.5 год. Реакцію розбавляли водою (100 мл) та перемішували протягом 1 год. Отриману тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою, та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (3.62 г, 99 %) як не зовсім білу тверду речовину. +EPI (M+H) 322.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 10.54 (s, 1 H), 8.60 (s, 1 H), 7.99 (d, J=9.36 Гц, 1 H), 7.59 (dd, J=9.17, 2.93 Гц, 1 H), 7.11 (d, J=2.73 Гц, 1 H), 4.65 (s, 2 H), 1.49 (s, 9 H).

Етап 3: 6-(2-трет-бутоксипропіл-2-оксопропіл)-2-хлорохінолін-3-карбонова кислота

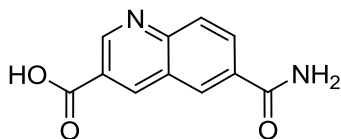


До суспензії трет-бутил 2-(2-хлоро-3-формілхінолін-6-ілокси)ацетату (3.6 г, 11 ммол) у трет-бутанолі (150 мл) додавали 2-метил-2-бутен (14.9 мл, 133 ммол) та розчин натрій хлориту (8.27 г, 73.1 ммол) і натрій дигідрогенфосфату (8.10 г, 58.7 ммол) у воді (50 мл). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Трет-бутанол видаляли у вакуумі. Суміш розбавляли водою (60 мл) та підкислювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH=4. Отриманий осад фільтрували, промивали водою, та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (3.7 г, 100 %) як білу тверду речовину. +EPI (M+H) 338.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 8.69 (s, 1 H), 7.89 (d, J=9.19 Гц, 1 H), 7.56 (dd, J=9.19, 2.74 Гц, 1 H), 7.34 (d, J=2.93 Гц, 1 H), 4.76 (s, 2 H), 1.49 (s, 9 H).

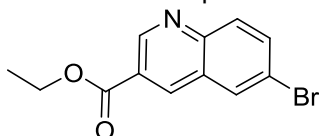
Етап 4: 6-(2-трет-бутоксипропіл-2-оксопропіл)хінолін-3-карбонова кислота

Метанол (100 мл) та триетиламін (4.5 мл, 33 ммол) додавали до 6-(2-трет-бутоксипропіл-2-оксопропіл)-2-хлорохінолін-3-карбонової кислоти (1.27 г, 3.76 ммол). Додавали 10 % паладій на вугіллі (350 мг), та над реакцією створювали тиск водню 17 фунтів на квадратний дюйм. Реакцію струшували при кімнатній температурі протягом 3 год. Реакційну суміш розбавляли метанолом та фільтрували через Целіт. Фільтрат концентрували до жовтої твердої речовини. Тверду речовину розбавляли водою, та суміш підкислювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH=4,1. Тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (960 мг, 84 %) як білу жовту тверду речовину. +EPI (M+H) 304.2; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 9.19 (d, J=2.15 Гц, 1 H), 8.87 (d, J=2.15 Гц, 1 H), 8.01 (d, J=9.36 Гц, 1 H), 7.59 (dd, J=9.27, 2.83 Гц, 1 H), 7.38 (d, J=2.73 Гц, 1 H), 4.78 (s, 2 H), 1.49 (s, 9 H).

Інтермедіат 23: 6-карбамоілхінолін-3-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1: етил 6-бромохінолін-3-карбоксилат

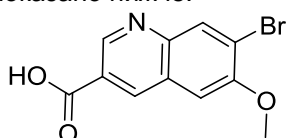


До розчину 5-бromo-2-нітробензальдегіду (2 г, 9 ммол) в етанолі (46 мл) додавали олово(II) хлорид дигідрат (7.95 г, 35.2 ммол) та 3,3-діетоксипропіонової кислоти етил-естер (4.2 мл, 22 ммол). Реакцію нагрівали до 90 °C протягом 16 год. Тоді реакції дозволяли охолоджуватися до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Реакційну суміш концентрували та осад розчиняли в етилацетаті. Суміш заливали в насичений водн. натрій гідрогенкарбонат. Отриману емульсію фільтрували через Целіт, промиваючи етилацетатом. Шари відокремлювали та водний екстрагували етилацетатом. Комбіновані органічні промивали розсолем, сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-50 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (1.41 г, 60 %) як тверду речовину.

Етап 2: 6-карбамоілхінолін-3-карбонова кислота

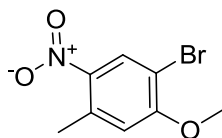
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному на етапах 3-4 для інтермедіату 6, застосовуючи етил 6-бромохінолін-3-карбоксилат. +EPI (M+H) 217.0; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 13.58 (br. s., 1 H), 9.34 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.97 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.67 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.25-8.31 (m, 1 H), 8.20 (br. s., 1 H), 8.09-8.14 (m, 1 H), 7.61 (br. s., 1 H).

Інтермедіат 24: 7-бromo-6-метоксихінолін-3-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



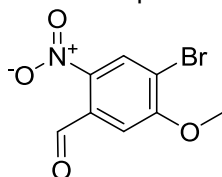
Етап 1: 1-бromo-2-метокси-4-метил-5-нітробензол





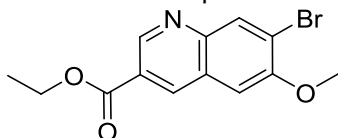
До розчину 4-метокси-2-метил-1-нітробензолу (2.0 г, 12 ммол) в N, N-диіметилформаміді (5 мл) додавали N-бромосукцинімід (8.52 г, 47.9 ммол). Реакцію нагрівали до 100 °C протягом 1.5 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розбавляли насиченим водн. натрій тіосульфатом. Суміш екстрагували етилацетатом (3 х). Комбіновані органічні промивали водою, насиченим натрій тіосульфатом та розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Осад очищали на флеш-хроматографічній колонці (0-30 % етилацетат / гептани) для отримання заголовної сполуки (2.6 г, ~43 % чистота) як блідої жовтої твердої речовини. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.32 (s, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 3.97 (s, 3 H), 2.63 (s, 3 H).

Етап 2: 4-бromo-5-метокси-2-нітробензальдегід



Сирий 1-бromo-2-метокси-4-метил-5-нітробензол (2.6 г, 11 ммол) розчиняли в N, N-диіметилформаміді (15 мл) та додавали N, N-диіметилформамід диметилацеталь (5 мл, 38 ммол). Реакцію нагрівали до 120 °C протягом 18 год. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та суміш додавали безпосередньо до 0 °C суспензії натрій періодату (12.2 г, 57.2 ммол) у воді (20 мл) та N, N-диіметилформаміді (5 мл). Реакцію перемішували при 0 °C протягом 2 год., тоді дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували ще 6 год. Реакційну суміш фільтрували, промиваючи етилацетатом, толуолом та водою. Фільтрат екстрагували етилацетатом (3 х). Комбіновані органічні промивали водою та розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-50 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (550 мг, 19 %) як бліду жовту тверду речовину. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 10.47 (s, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 7.35 (s, 1 H), 4.05 (s, 3 H).

Етап 3: етил 7-бromo-6-метоксихінолін-3-карбоксилат



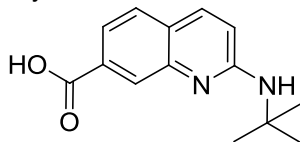
До суспензії 4-бromo-5-метокси-2-нітробензальдегіду (475 мг, 1.83 ммол) в етанолі (15 мл) додавали олово(II) хлорид дигідрат (1.65 г, 7.31 ммол) та етил 3,3-діетоксипропіонат (1.0 мл, 5.1 ммол). Реакцію нагрівали до 90 °C протягом 3 год. Згідно РХМС показано незавершеність реакції. Додавали додаткові олово(II) хлорид дигідрат (600 мг, 2.7 ммол) та етил 3,3-діетоксипропіонат (0.35 мл, 1.8 ммол), та реакцію залишали нагріватися протягом ночі. Згідно РХМС показано незавершеність реакції. Додавали олово(II) хлорид дигідрат (200 мг, 0.89 ммол) та етил 3,3-діетоксипропіонат (0.10 мл, 0.51 ммол), та реакцію нагрівали при 90 °C протягом ще 3 год. Реакцію концентрували та осад розподіляли між етилацетатом та насиченим водн. натрій гідрогенкарбонатом. Водний шар фільтрували та екстрагували знов етилацетатом. Комбіновані органічні промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Осад очищали на флеш-хроматографічній колонці (0-100 % етилацетат / гептани), що дало жовту тверду речовину (410 мг), яка містила бажаний продукт та забруднення. Цей матеріал брали в тетрагідрофурані (5 мл) та етил 3,3-діетоксипропіонаті (0.17 мл, 0.87 ммол) і додавали п-толуолсульфонову кислоту моногідрат (12.0 мг, 0.63 ммол). Суміш нагрівали до 75 °C та перемішували протягом 3 год. Реакцію концентрували та осад розподіляли між етилацетатом та насиченим водн. натрій гідрогенкарбонатом. Шари відокремлювали та водний екстрагували етилацетатом (2 х). Комбіновані органічні промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-25 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (256 мг, 45 %) як жовту тверду речовину. +EPI (M+H+1) 313.3.

Етап 4: 7-бromo-6-метоксихінолін-3-карбонова кислота

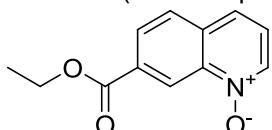
До розчину етил 7-бromo-6-метоксихінолін-3-карбоксилату (250 мг, 0.80 ммол) у тетрагідрофурані (5 мл) додавали 1 N водн. літій гідроксид (1.6 мл, 1.6 ммол). Реакцію

перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію концентрували та осад брали у воді та 1 N водн. літій гідроксиді (0.4 мл). Розчин екстрагували двічі етилацетатом. Водний шар тоді підкислювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH=4. Отриманий осад фільтрували, промивали водою та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (165 мг, 73 %) як не зовсім білу тверду речовину. +EPI (M+H+1) 284.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 9.19 (d, J=2.15 Гц, 1 H), 8.89 (d, J=1.76 Гц, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 7.53 (s, 1 H), 4.04 (s, 3 H).

Інтермедіат 25: 2-(трет-бутиламіно)хінолін-7-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1: 7-(етоксикарбоніл)хінолін 1-оксид

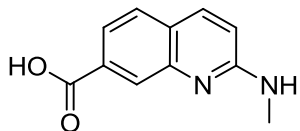


До розчину етил хінолін-7-карбоксилату (1.02 г, 5.05 ммол) у дихлорометані (20 мл) додавали пероцтову кислоту (2.13 мл, 10.1 ммол, 32 мас. % в оцтовій кислоті). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію розподіляли між водою та дихлорометаном. Шари відокремлювали та водний екстрагували дихлорометаном (4 х). Комбіновані органічні промивали водою та розсолем, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Тверду речовину концентрували з гептанів та етилацетату декілька разів, тоді сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (1.01 г, 92 %) як жовту тверду речовину. +EPI (M+H) 218.2; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 9.40 (s, 1 H), 8.65 (d, J=6.05 Гц, 1 H), 8.27 (dd, J=8.58, 1.56 Гц, 1 H), 7.95 (d, J=8.39 Гц, 1 H), 7.82 (d, J=8.58 Гц, 1 H), 7.42 (dd, J=8.49, 6.15 Гц, 1 H), 4.47 (q, J=7.02 Гц, 2 H), 1.45 (t, J=7.1 Гц, 3 H).

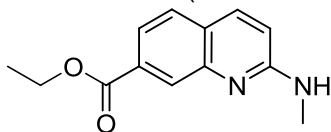
Етап 2: 2-(трет-бутиламіно)хінолін-7-карбонова кислота

До 0 °C розчину 7-(етоксикарбоніл)хінолін 1-оксиду (500 мг, 2.3 ммол) та трет-бутиламіну (1.46 мл, 13.8 ммол) у трифлуорометилбензолі (25 мл) додавали поміrkованими порціями п-толуолсульфоновий ангідрид (1.96 г, 5.76 ммол), утримуючи внутрішню температуру реакції нижче 5 °C. Реакцію перемішували протягом 1 год. Додавали насичений водн. натрій гідроген карбонат, та реакційній суміш перемішували протягом 15 хвил. Тоді фази відокремлювали та водну екстрагували дихлорометаном (2 х). Комбіновані органічні промивали розсолем, сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці, що дало 499 мг чистої олії, яка тверділа при стоянні. Цей матеріал брали в тетрагідрофурани (5 мл) та додавали 1 N водн. літій гідроксид (3.6 мл, 3.6 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію концентрували та осад розбавляли водою й підкислювали 1 N водн. хлоридною кислотою до pH=4. Отриманий осад відфільтровували та сушили під вакуумом, що дало заголовну сполуку (330 мг, 75 %) як блідий жовтий порошок. -EPI (M-H) 243.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 12.86 (br. s., 1 H), 8.02 (d, J=1.56 Гц, 1 H), 7.81 (d, J=9.03 Гц, 1 H), 7.57 – 7.65 (m, 2 H), 6.83 (d, J=8.97 Гц, 1 H), 6.81 (br. s., 1 H), 1.46 (s, 9 H).

Інтермедіат 26: 2-(метиламіно)хінолін-7-карбонову кислоту, показану нижче, отримували як показано нижче:



Етап 1: етил 2-(метиламіно)хінолін-7-карбоксилат



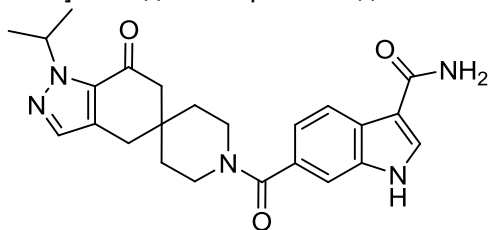
До -70 °C розчину 7-(етоксикарбоніл)хінолін 1-оксиду (1.67 г, 7.70 ммол) у дихлорометані (80 мл) додавали краплями трифлуорометансульфоновий ангідрид (1.43 мл, 8.47 ммол) під атмосферою азоту. Суміш перемішували при -70 °C протягом 5 хвил. Тоді краплями додавали розчин метиламіну в тетрагідрофурани (21 мл, 42 ммол, 2.0 M) при -70 °C. Суміш перемішували

протягом 5 хвил., і тоді реакцію гасили водою (20 мл). Шари відокремлювали та водний екстрагували дихлорометаном (3 × 30 мл). Комбіновані органічні промивали розсоллом, сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці, що дало заголовну сполуку (720 мг, 41 %) як жовту тверду речовину. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.42 (s, 1 H), 7.84-7.82 (m, 2 H), 7.63-7.61 (m, 1 H), 6.72-6.70 (m, 1 H), 4.92 (br. s., 1 H), 4.44-4.38 (m, 2 H), 3.12-3.11 (m, 3 H), 1.44-1.40 (m, 3 H).

Етап 2: 2-(метиламіно)хінолін-7-карбонова кислота

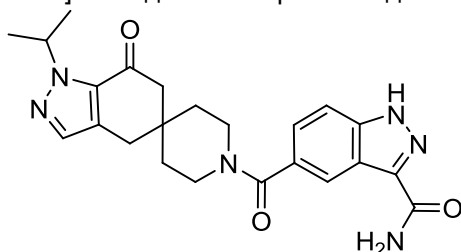
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 2 для інтермедіату 13, застосовуючи етил 2-(метиламіно)хінолін-7-карбоксилат. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО, δ): 8.08 (s, 1 H), 7.91-7.89 (m, 1 H), 7.71-7.62 (m, 2 H), 7.21 (s, 1 H), 6.85-6.83 (m, 1 H), 2.91-2.90 (m, 3 H).

Приклад 1: 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл) карбоніл]-1H-індол-3-карбоксамід



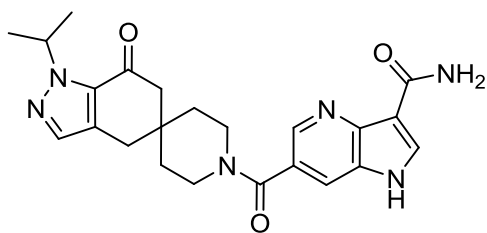
Суміш 3-карбамоіл-1H-індол-6-карбонової кислоти (25 мг, 0.12 ммол), 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (38 мг, 0.13 ммол), (1H-7-азобензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметил-уроніум-гексафлуорофосфату (46 мг, 0.12 ммол) та діізопропілетиламіну (85 мкл, 0.49 ммол) у 0.5 мл діметилформаміду перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію розбавляли етилацетатом та промивали 0.1 N хлоридною кислотою. Органічний шар сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували у вакуумі. Осад очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку (14.6 мг, 28 %). Аналітична РХМС: +EPI (M+H) 434.1; час утримування 2.24 хвил. (Waters Atlantis C<sub>18</sub> 4.6 × 50 мм, колонка 5 мкМ; лінійний градієнт 95 % вода / ацетонітрил – 5 % вода / ацетонітрил протягом 4.0 хвил., тримали при 5 % води / ацетонітрилу до 5.0 хвил.; модифікатор 0.05 % трифлуорооцтова кислота; швидкість потоку 2.0 мл/хвил.) (Спосіб А).

Приклад 2: 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл) карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід



До суспензії 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (16.8 г, 53.6 ммол) та 3-карбамоіл-1H-індазол-5-карбонової кислоти (10.0 г, 48.7 ммол) у N, N-діметилформаміді (120 мл) додавали триетиламін (40 мл, 290 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 хвил. і тоді охолоджували до 5 °C. Додавали краплями циклічний ангідрид 1-пропанфосфорної кислоти (60 мл, 100 ммол, 50 мас. % розчин у етилацетат) протягом 20 хвил., утримуючи внутрішню температуру в діапазоні 5 – 10 °C. Реакцію перемішували протягом ночі, поступово нагріваючи до кімнатної температури. Реакційну суміш повільно переливали в 700 мл води при 5 °C. Отриманий осад відфільтровували та сушили. До фільтрату додавали 10 % метанол / етилацетат (1 л) та отриманий осад відфільтровували та сушили. Тверді збирали, комбінували (8.9 г) та розчиняли в N, N-діметилформаміді (34 мл) при 130 °C. Розчин охолоджували до 100 °C та додавали метанол (65 мл). Розчину дозволяли повільно охолоджуватися до кімнатної температури. Отриманий осад збирали фільтруванням та сушили, що дало заголовну сполуку (6.0 г, 28 %). +EPI (M+H) 435.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 13.65 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 7.75 (s, 1 H), 7.60 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 7.29-7.47 (m, 3 H), 5.24 (m, 1 H), 3.32-3.79 (m, 4 H), 2.78 (s, 2 H), 2.59 (s, 2 H), 1.47 (br. s., 4 H), 1.32 (d, J=6.7 Гц, 6 H).

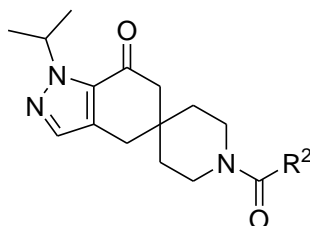
Приклад 3: 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл) карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбоксамід



До розчину 1, (3-диметиламінопропіл)-3-етил карбодіїмід гідрогенхлориду (252 мг, 1.31 ммол) та 1-гідроксибензотриазол гідрату (199 мг, 1.30 ммол) у дихлорометані (5 мл) додавали 3-карбамоіл-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбонову кислоту (212 мг, 1.04 ммол). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 40 хвил. Тоді додавали 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он (312 мг, 1.26 ммол) та триетиламін (0.434 мл, 3.11 ммол), і реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Реакцію розбавляли насиченим водн. амоній хлоридом та екстрагували двічі дихлорометаном. Комбіновані органічні шари промивали послідовно насиченим натрій гідрокарбонатом, водою та розсоллом. Органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали на флеш-хроматографічній колонці (0-100 % 20 % розчин метанолу / дихлорометану), що дало заголовну сполуку (254 мг, 57 %). +EPI (M+H) 435.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ): 8.57 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 7.98 (d, J=1.0 Гц, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 5.38 (m, 1 H), 3.63 (m, 4 H), 2.90 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.66 (m, 4 H), 1.42 (d, J=6.6 Гц, 6 H).

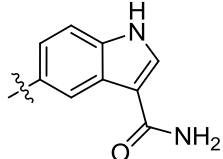
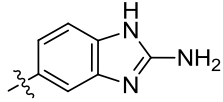
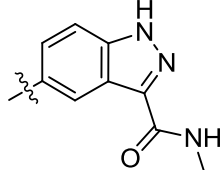
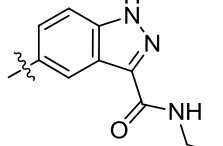
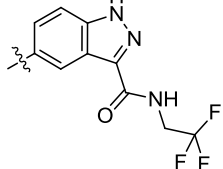
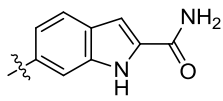
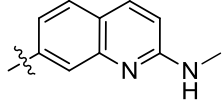
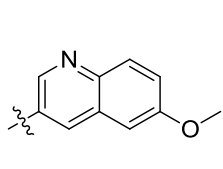
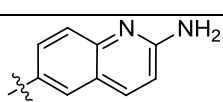
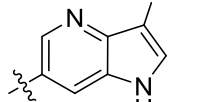
Сполуки, наведені нижче в таблиці 1, отримували, застосовуючи способи аналогічні описаним вище для синтезу сполук прикладів 1-3, застосовуючи придатні вихідні матеріали, які є в продажу, застосовуючи способи отримання добре відомі спеціалісту в рівні техніки, або способи отримання шляхом, описаним вище. Указані нижче сполуки спочатку виділяли як вільну основу, яку можна перетворювати до фармацевтично прийнятної солі для тестування.

Таблиця 1

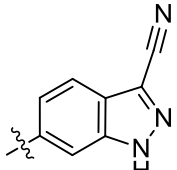


| Приклад | Приклад | Приклад  |
|---------|---------|--|
| 4       |         | +EPI (M+H) 435.3; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.64 (s, 1 H), 8.15 (d, J=8.2 Гц, 1 H), 7.73 (d, J=0.8 Гц, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 7.33-7.38 (m, 1 H), 7.18 (dd, J=8.3, 0.9 Гц, 1 H), 5.17-5.32 (m, 1 H), 3.50-3.80 (m, 2 H), 3.22-3.38 (m, 2 H), 2.78 (br. s., 2 H), 2.59 (s, 2 H), 1.40-1.61 (m, 4 H), 1.32 (d, J=6.3 Гц, 6 H).        |
| 5       |         | +EPI (M+H) 435.1; час утримування 2.1 хвил. (Спосіб А)   |
| 6       |         | +EPI (M+H) 434.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.67-11.72 (m, 1 H), 7.98 (br. s., 1 H), 7.65 (s, 1 H), 7.45 (s, 1 H), 7.42 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.38 (br. s., 1 H), 7.21 (d, J=0.4 Гц, 1 H), 7.15 (d, J=2.5 Гц, 1 H), 5.26 (dt, J=13.3, 6.6 Гц, 1 H), 3.38-3.54 (m, 4 H), 2.80 (s, 2 H), 2.61 (s, 2 H), 1.45-1.54 (m, 4 H), 1.35 (d, J=6.4 Гц, 6 H). |

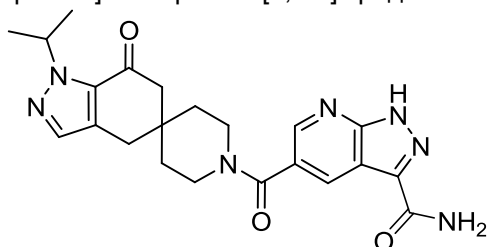
Продовження таблиці 1

| Приклад | Приклад   | Приклад  |
|---------|---|--|
| 7       |    | +ЕРІ (М+Н) 434.2; <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.68 (br. s., 1 H), 8.20 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.41-7.47 (m, 3 H), 7.17 (dd, J=8.3, 1.5 Гц, 1 H), 6.81 (br. s., 1 H), 5.21-5.32 (m, 1 H), 3.42-3.71 (m, 4 H), 2.81 (s, 2 H), 2.62 (s, 2 H), 1.44-1.56 (m, 4 H), 1.36 (d, J=6.6 Гц, 6 H).  |
| 8       |    | <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.50 (br. s., 1 H), 7.44 (s, 1 H), 7.37 (d, J=9.2 Гц, 2 H), 7.26 (d, J=8 Гц, 1 H), 5.37-5.44 (m, 1 H), 3.40-4.00 (m, 4 H), 2.91 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.44 (d, J=6.8 Гц, 6 H).   |
| 9       |    | <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.65 (s, 1 H), 8.35 (m, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.57 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.39 (s, 1 H), 7.35-7.37 (m, 1 H), 5.15-5.30 (m, 1 H), 3.3-3.8 (m, 4 H), 2.75 (m, 5 H), 2.56 (s, 2 H), 1.35-1.60 (m, 4 H), 1.29 (d, J=6.8 Гц, 6 H).  |
| 10      |    | <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.43 (m, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 7.65 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.47 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 5.37-5.40 (m, 1 H), 3.65-4.00 (m, 2 H), 3.44-3.52 (m, 4 H), 2.90 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.42 (d, J=6.4 Гц, 6 H), 1.26 (t, J=7.2 Гц, 3 H).  |
| 11      |  | <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.31 (s, 1 H), 7.68 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.50 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 5.37-5.40 (m, 1 H), 4.09-4.16 (m, 2 H), 3.65-4.00 (m, 2 H), 3.45-3.64 (m, 2 H), 2.90 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.42 (d, J=6.4 Гц, 6 H).  |
| 12      |  | +ЕРІ (М+Н) 434.3; <sup>1</sup> Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.67 (s, 1 H), 7.98 (br. s., 1 H), 7.60 (d, J=8.2 Гц, 1 H), 7.40-7.44 (m, 2 H), 7.36-7.40 (m, 1 H), 7.09-7.13 (m, 1 H), 7.01 (dd, J=8.3, 1.5 Гц, 1 H), 5.19-5.29 (m, 1 H), 3.31-3.70 (m, 4 H), 2.78 (s, 2 H), 2.59 (s, 2 H), 1.38-1.54 (m, 4 H), 1.33 (d, J=6.6 Гц, 6 H).  |
| 13      |  | +ЕРІ (М+Н) 432.3; час утримування ВЕРХ 2.18 хвил. (Спосіб А)   |
| 14      |  | +ЕРІ (М+Н) 433.3; час утримування ВЕРХ 2.52 хвил. (Спосіб А). <sup>1</sup> Н ЯМР (500 МГц, CDCl <sub>3</sub> , δ) 8.78 (d, J=2.20 Гц, 1 H), 8.13 (d, J=1.95 Гц, 1 H), 8.03 (d, J=9.27 Гц, 1 H), 7.44 (dd, J=9.03, 2.68 Гц, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.10 (d, J=2.68 Гц, 1 H), 5.35-5.43 (m, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 3.81 (br. s., 2 H), 3.50 (br. s., 2 H), 2.84 (s, 2 H), 2.63 (s, 2 H), 1.54-1.79 (m, 4 H), 1.47 (d, J=6.34 Гц, 6 H). |
| 15      |  | +ЕРІ (М+Н) 418.2; час утримування ВЕРХ 2.06 хвил. (Спосіб А).  |
| 16      |  | +ЕРІ (М+Н) 426.1; час утримування ВЕРХ 2.18 хвил. (Спосіб А).  |

Продовження таблиці 1

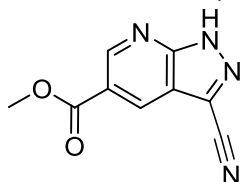
| Приклад | Приклад   | Приклад  |
|---------|---|--|
| 17      |  | +EPI (M+H) 417.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 7.91 (dd, J=8.4, 0.8 Гц, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.33 (dd, J=8.4, 1.2 Гц, 1 H), 5.19-5.28 (m, 1 H), 3.49-3.78 (m, 4 H), 2.77 (br. s., 2 H), 2.59 (s, 2 H), 1.36-1.60 (m, 4 H), 1.33 (m, 6 H). |

Приклад 18: 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1Н-піразоло[3,4-б]піридин-3-карбоксамід



5

Етап 1. метил 3-ціано-1Н-піразоло[3,4-б]піридин-5-карбоксилат

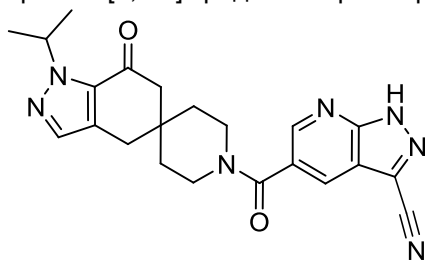


10

Метил 3-бromo-1Н-піразоло[3,4-б]піридин-5-карбоксилат (1.28 г, 5.01 ммол) комбінували з N, N-диметилацетамідом (34 мл). До цієї суміші додавали пил цинку (195 мг, 2.90 ммол) та цинк ціанід (1.20 г, 10.2 ммол). Через суміш барботували азот протягом 30 хвил. Тоді додавали комплекс 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій (II) дихлорид дихлорометан (611 мг, 0.749 ммол), та реакційну склянку герметизували. Реакцію нагрівали до 120 °С протягом 65 год. Реакцію розбавляли 20 % метанолом / етилацетатом та фільтрували через Целіт. Фільтрат розбавляли водою та переносили до ділильної лійки. Фази відокремлювали, та органічні промивали знов водою та розсоллом. Тоді органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-75 % етилацетат / гептани), що дало заголовну сполуку (390 мг, 39 %). +EPI (M+H) 203.1.

15

Етап 2. 5-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)-1Н-піразоло[3,4-б]піридин-3-карбонітрил



20

Метил 3-ціано-1Н-піразоло[3,4-б]піридин-5-карбоксилат (390 мг, 1.93 ммол) розчиняли в метанолі (20 мл). Додавали водн. 1 N натрій гідроксид (11 мл, 10 ммол), і реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 22 год. Сире концентрували для видалення метанолу, і тоді промивали один раз дихлорометаном. Водний шар підкислювали 6 N водн. хлоридною кислотою до pH=2, та отримані тверді збирали фільтруванням (172 мг).

25

До карбонової кислоти (170 мг, 0.91 ммол) додавали 4-диметиламінопіридин (27.6 мг, 0.22 ммол), 2-пропанфосфонової кислоти циклічний ангідрид (0.65 мл, 1.1 ммол) та дихлорометан (3 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Тоді додавали триетиламін (0.51 мл, 3.6 ммол) та 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он (293 мг, 0.913 ммол), і реакцію перемішували протягом 17 год. Додавали додатковий триетиламін (0.30 мл, 2.2 ммол), і реакцію перемішували ще 24 год. Реакцію розбавляли водою та шари

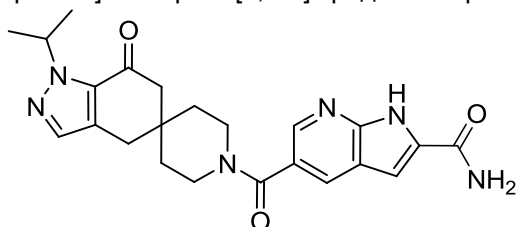
30

відокремлювали. Водне екстрагували двічі дихлорометаном. Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали на хроматографічній колонці (0-100 % 10 % метанолу в розчині дихлорометану / дихлорометані), що дало заголовну сполуку (177 мг, 47 %). +EPI (M+H) 418.3;  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, ХЛОРОФОРМ-d,  $\delta$ ): 13.59 (br. s., 1 H), 8.81 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.38 (d, J=1.7 Гц, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 3.77-3.98 (m, 2 H), 3.44-3.63 (m, 2 H), 2.86 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.54-1.85 (m, 4 H), 1.47 (d, J=6.6 Гц, 6 H).

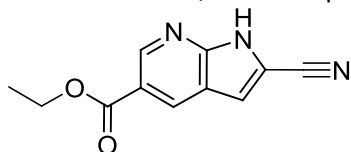
Етап 3. 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1Н-піразоло[3,4-b]піридин-3-карбоксамід

Розчин 5-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)-1Н-піразоло[3,4-b]піридин-3-карбонітрилу (177 мг, 0.424 ммол) в метанолі (2 мл) додавали до 0 °С розчину сечовини гідроген пероксиду (552 мг, 5.70 ммол) у 1 N водн. натрій гідроксиді (4.24 мл, 4.24 ммол). Реакції дозволяли нагріватися до кімнатної температури та перемішували протягом 22 год. Метанол видаляли під зниженим тиском та осад розбавляли водою й насиченим водн. амоній хлоридом. Суміш екстрагували дихлорометаном (3х). Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку. Аналітична РХМС: +EPI (M+H) 436.2; час утримування 2.11 хвил. (Спосіб А).

Приклад 19: 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1Н-піроло[2,3-b]піридин-2-карбоксамід

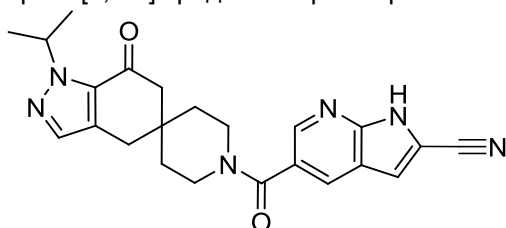


Етап 1. етил 2-ціано-1Н-піроло[2,3-b]піридин-5-карбоксилат



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 1 прикладу 18, застосовуючи етил 2-бromo-1Н-піроло[2,3-b]піридин-5-карбоксилат. +EPI (M+H) 216.3;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, МЕТАНОЛ-d<sub>4</sub>,  $\delta$ ): 9.02 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.73 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 7.35 (s, 1 H), 4.41 (q, J=7.2 Гц, 2 H), 1.40 (t, J=7.1 Гц, 3 H).

Етап 2. 5-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)-1Н-піроло[2,3-b]піридин-2-карбонітрил

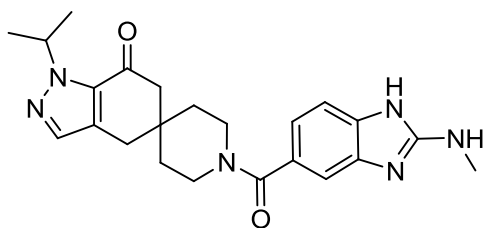


До етил 2-ціано-1Н-піроло[2,3-b]піридин-5-карбоксилату (36 мг, 0.17 ммол) додавали метанол (1 мл), тетрагідрофуран (1 мл) та воду (1 мл), а потім – 2 N водн. літій гідроксид (0.17 мл, 0.33 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі й тоді концентрували. Сире брали у воді та рН регулювали до 4, застосовуючи 1 N водн. хлоридну кислоту. Суміш екстрагували етилацетатом (3х). Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували для отримання 2-ціано-1Н-піроло[2,3-b]піридин-5-карбонової кислоти. Тоді заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 1, застосовуючи 2-ціано-1Н-піроло[2,3-b]піридин-5-карбонову кислоту. -EPI (M-H) 415.1.

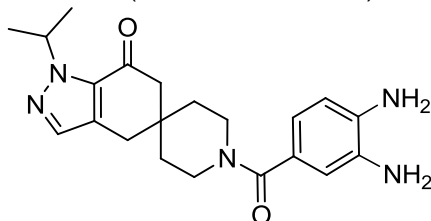
Етап 3. 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1Н-піроло[2,3-b]піридин-2-карбоксамід

Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 3 прикладу 18. Аналітична РХМС: +EPI (M+H) 435.1; час утримування 2.17 хвил. (Спосіб А).

Приклад 20: 1-ізопропіл-1'-[2-(метиламіно)-1Н-бензімідазол-5-іл]карбоніл]-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он



Етап 1. 1'-((3,4-діамінобензоїл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он



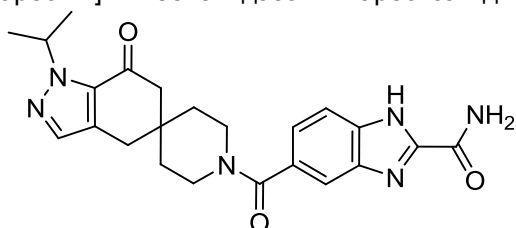
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному наприклад 3, застосовуючи 3,4-діамінобензойну кислоту.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ ): 7.45 (s, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 5.76 (s, 1 H), 5.24-5.30 (m, 1 H), 4.78 (s, 2 H), 4.56 (s, 2 H), 3.35-3.55 (m, 4 H), 2.79 (s, 2 H), 2.59 (s, 2 H), 2.40-2.50 (m, 1 H), 1.42-1.46 (m, 3 H), 1.35 (d,  $J=6.8$  Гц, 6 H).

Етап 2. 1-ізопропіл-1'-[[2-(метиламіно)-1H-бензімідазол-5-іл]карбоніл]-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он

Суміш 1'-((3,4-діамінобензоїл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (0.1 г, 0.3 ммол) та ізотіоціанатометану (19 мг, 0.3 ммол) розчиняли в тетрагідрофурані (3 мл). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом 6 год. Реакційну суміш концентрували, та осад заливали в холодну воду. Розчин екстрагували етилацетатом (3  $\times$  20 мл). Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували для отримання 1-(2-аміно-4-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)феніл)-3-метилтіосечовини (37 мг, 27 %).

Сирий продукт розчиняли в етанолі (2 мл) та додавали метиліодид (147 мг, 1.0 ммол). Реакцію нагрівали під зворотним холодильником та перемішували протягом ночі. Реакцію концентрували та осад підлужували до pH=9 амоній гідроксидом. Суміш екстрагували дихлорометаном (3  $\times$  20 мл). Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку (28 мг, 83 %) як не зовсім білу тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 7.39 (s, 1 H), 7.13 (s, 1 H), 7.05-7.07 (m, 1 H), 6.99-7.01 (m, 1 H), 5.33-5.43 (m, 1 H), 3.44-3.89 (m, 4 H), 2.91 (s, 3 H), 2.86 (s, 2 H), 2.60 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.46 (d,  $J=6.8$  Гц, 6 H).

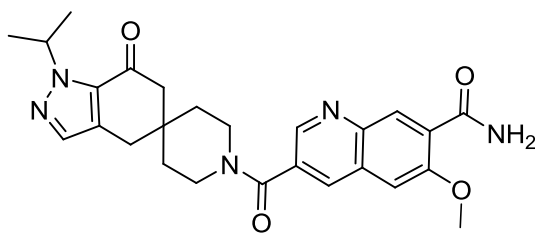
Приклад 21: 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-бензімідазол-2-карбоксамід



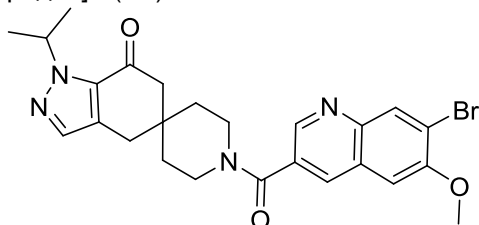
Суміш 1'-((3,4-діамінобензоїл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (500 мг, 1.3 ммол), 2-хлороацетаміду (200 мг, 2.1 ммол), сірки (200 мг, 6.3 ммол) та триетиламіну (1 мл, 7 ммол) у N, N-диіметилформаміді (5 мл) перемішували при 65 °C протягом ночі. Реакційну суміш охолоджували до 0 °C, розбавляли водою (10 мл) та екстрагували етилацетатом (2  $\times$  20 мл). Комбіновані органічні сушили над натрій сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали хроматографією на колонці, що дало заголовну сполуку (252 мг, 44 %) як жовту тверду речовину.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 7.60-7.90 (m, 2 H), 7.30-7.50 (m, 2 H), 5.37-5.40 (m, 1 H), 3.40-4.00 (m, 4 H), 2.89 (s, 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.42 (d,  $J=6.4$  Гц, 6 H).

Приклад 22: 3-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-6-метоксихінолін-7-карбоксамід



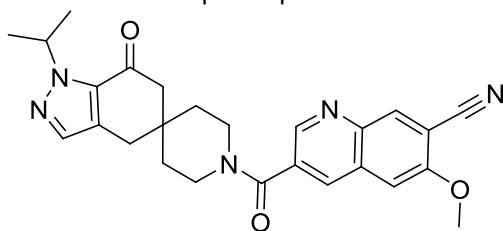


Етап 1: 1'-(7-бромо-6-метоксихінолін-3-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 2, застосовуючи 7-бромо-6-метоксихінолін-3-карбонову кислоту. +EPI (M+H+1) 513.2;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 8.71 (d, J=2.15 Гц, 1 H), 8.29 (s, 1 H), 8.05 (d, J=2.15 Гц, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 7.05 (s, 1 H), 5.25-5.37 (m, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 3.65-3.91 (m, 2 H), 3.37-3.58 (m, 2 H), 2.77 (s, 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.59-1.73 (m, 2 H), 1.46-1.59 (m, 2 H), 1.39 (d, J=6.44 Гц, 6 H).

Етап 2: 3-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)-6-метоксихінолін-7-карбонітрил

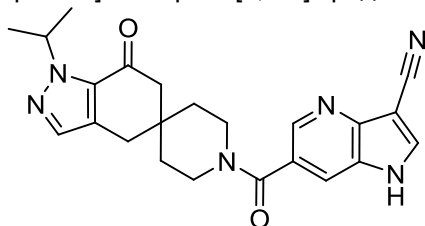


Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному для інтермедиату 6, застосовуючи 1'-(7-бромо-6-метоксихінолін-3-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он. +EPI (M+H) 458.4;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 8.82 (d, J=1.95 Гц, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.10 (d, J=1.56 Гц, 1 H), 7.35 (s, 1 H), 7.14 (s, 1 H), 5.33 (m, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 3.70-3.91 (m, 2 H), 3.36-3.54 (m, 2 H), 2.80 (s, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 1.65-1.77 (m, 2 H), 1.51-1.62 (m, 2 H), 1.42 (d, J=4.49 Гц, 6 H).

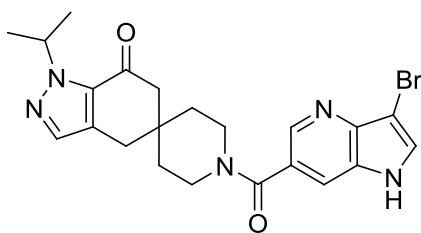
Етап 3: 3-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-6-метоксихінолін-7-карбоксамід

Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 4 для інтермедиату 6, застосовуючи 3-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)-6-метоксихінолін-7-карбонітрил. +EPI (M+H) 476.4;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ ): 8.77 (s, 1 H), 8.52 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 5.31-5.43 (m, 1 H), 4.08 (s, 3 H), 3.84-4.00 (m, 1 H), 3.69-3.83 (m, 1 H), 3.48-3.58 (m, 2 H), 2.90 (s, 2 H), 2.65 (br. s., 2 H), 1.53-1.78 (m, 4 H), 1.35-1.45 (m, 6 H).

Приклад 23: 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбонітрил



Етап 1: 1'-(3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он

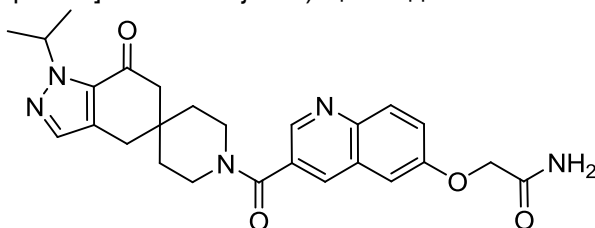


Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 3, застосовуючи 3-бromo-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбонову кислоту. +EPI (M+H<sup>+</sup>) 472.1; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 11.85 (br. s., 1 H), 8.39 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 7.93 (s, 1 H), 7.81 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 5.24 (m, 1 H), 3.68 (m, 1 H), 3.40 (m, 3 H), 2.79 (s, 2 H), 2.60 (s, 2 H), 1.49 (m, 4 H), 1.33 (d, J=6.6 Гц, 6 H).

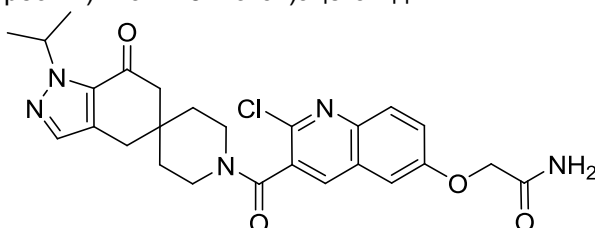
Етап 2: 6-((1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)-1Н-піроло[3,2-б]піридин-3-карбонітрил

До суміші 1'-(3-бromo-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (500 мг, 1.1 ммол), пилу цинку (70 мг, 1.1 ммол) та цинк ціаніду (187 мг, 1.60 ммол) додавали N, N-диметилацетамід (9 мл). Реакційну склянку закривали, та газ азот барботували через суміш протягом 15 хвил. Тим часом, суміш паладій(II) ацетату (24 мг, 0.11 ммол), 4,5-біс(дифенілфосфіно)-9,9-диметилксантену (68 мг, 0.12 ммол), та порошку цинку (7 мг, 0.13 ммол) у N, N-диметилацетаміді (1.5 мл) нагрівали до 80 °C протягом 15 хвил., що дало червонувато-коричневий розчин. Тоді цей паладієвий розчин через шприц додавали до суміші субстрату. Реакцію нагрівали до 100 °C та перемішували протягом 3 діб. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та розбавляли етилацетатом (100 мл). Розчин фільтрували через Целіт та фільтрат концентрували. Сирий залишок 50 мг очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку (25.8 мг). +EPI (M+H<sup>+</sup>) 417.1; час утримування ВЕРХ 2.32 хвил. (Спосіб А).

Приклад 24: 2-((3-((1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетамід



Етап 1: 2-(2-хлоро-3-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетамід



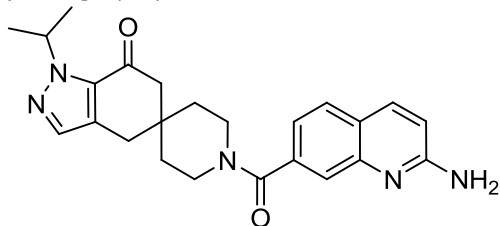
6-(2-трет-бутоксі-2-оксоетоксі)-2-хлорохінолін-3-карбонову кислоту та 1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он сполучали способом, аналогічним описаному в прикладі 1, що дало трет-бутил 2-(2-хлоро-3-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетат. Цей матеріал (30 мг, 0.053 ммол) суспендували в аміаку (2 мл, 10 ммол, 7 M у метанолі) та перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Реакцію концентрували, що дало заголовну сполуку (27 мг, 100 %). +EPI (M+H<sup>+</sup>) 510.4.

Етап 2: 2-((3-((1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетамід

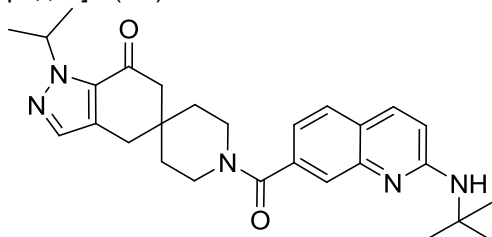
Метанол (1.5 мл) та етилацетат (1.5 мл) додавали до 2-(2-хлоро-3-(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетаміду (27 мг, 0.053 ммол). Тоді додавали паладій гідроксид (15 мг), та над реакцію створювали тиск водню до 40 фунтів на квадратний дюйм та струшували при кімнатній температурі протягом 20 год. Реакційну суміш фільтрували через Целіт та концентрували. Очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку (2.1 мг, 8 %). +EPI (M+H<sup>+</sup>) 476.2; час утримування ВЕРХ 2.11

хвил. (Спосіб А).

Приклад 25: 1'-[(2-амінохінолін-7-іл)карбоніл]-1-ізопропіл-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он



5      Етап 1: 1'-(2-(трет-бутиламіно)хінолін-7-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он



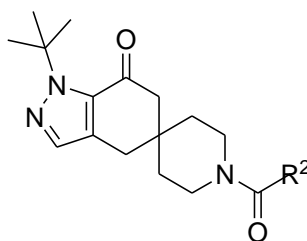
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 3, застосовуючи 2-(трет-бутиламіно)хінолін-7-карбонову кислоту. +ХІАТ (M+H) 474.6; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 7.72 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.64 (s, 1 H), 7.55 (d, J=8.2 Гц, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.16 (dd, J=8.1, 1.3 Гц, 1 H), 6.59 (d, J=9.2 Гц, 1 H), 5.36 (quin, J=6.6 Гц, 1 H), 3.31-3.96 (m, 4 H), 2.79 (s, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 1.55-1.75 (m, 4 H), 1.52 (s, 9 H), 1.44 (d, J=6.4 Гц, 6 H).

Етап 2: 1'-[(2-амінохінолін-7-іл)карбоніл]-1-ізопропіл-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он сіль трифлуороацетату

15      Трифлуорооцтову кислоту (0.90 мл, 12 ммол) додавали до 1'-(2-(трет-бутиламіно)хінолін-7-карбоніл)-1-ізопропіл-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-ону (50 мг, 0.11 ммол). Реакцію нагрівали до 70 °С протягом 3 год., тоді охолоджували до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Реакцію концентрували до сухого стану та очищали реверсно-фазовою ВЕРХ, що дало заголовну сполуку (41 мг, 93 %). +ЕРІ (M+H) 418.2; час утримування ВЕРХ 2.11 хвил. (Спосіб А). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>OD, δ) 8.36 (d, J=9.27 Гц, 1 H), 7.97 (d, J=8.05 Гц, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.53 (dd, J=8.17, 1.34 Гц, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 7.12 (d, J=9.27 Гц, 1 H), 5.39 (quint, J=13.23, 6.68 Гц, 1 H), 3.91 (br. s., 1 H), 3.76 (br. s., 1 H), 3.46 (br. s., 2 H), 2.92 (s, 2 H), 2.67 (d, J=7.81 Гц, 2 H), 1.74 (br. s., 2 H), 1.59 (br. s., 2 H), 1.43 (br. s., 6 H).

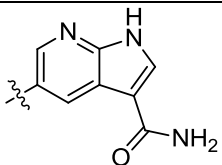
25      Сполуки, наведені нижче в таблиці 2, отримували, застосовуючи способи, аналогічні описаним вище для синтезу сполук прикладів 1-3, застосовуючи придатні вихідні матеріали, які є в продажу, застосовуючи способи отримання добре відомі спеціалісту в рівні техніки, або способи отримання шляхом, описаним вище. Указані нижче сполуки спочатку виділяли як вільну основу, яку можна перетворювати до фармацевтично прийнятної солі для тестування.

Таблиця 2



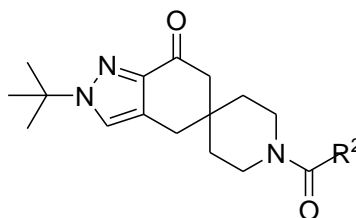
| Приклад | -R <sup>2</sup> | Аналітичні дані   |
|---------|-----------------|---|
| 26      |                 | +ХІАТ (M+H) 449.5; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, DMSO-d <sub>6</sub> , δ): 13.66 (br. s., 1 H), 8.17 (s, 1 H), 7.77 (br. s., 1 H), 7.59-7.64 (m, 1 H), 7.35-7.43 (m, 3 H), 3.33-3.83 (m, 4 H), 2.82 (br. s., 2 H), 2.62 (s, 2 H), 1.56 (s, 9 H), 1.33-1.53 (m, 4 H). |

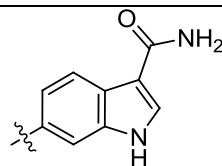
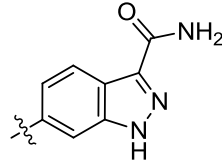
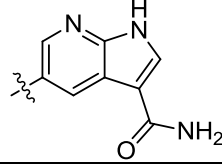
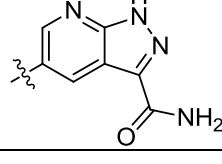
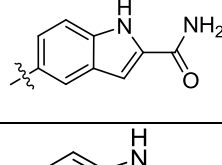
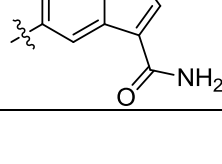
Продовження таблиці 2

| Приклад | -R <sup>2</sup>   | Аналітичні дані   |
|---------|---|---|
| 27      |  | +EPI (M+H) 449.2; час утримування 2.31 хвил. (Спосіб А) |

5 Сполуки, наведені нижче в таблиці 3, отримували, застосовуючи способи, аналогічні описаним вище для синтезу сполук прикладів 1-3, застосовуючи придатні вихідні матеріали, які є в продажу, застосовуючи способи отримання добре відомі спеціалісту в рівні техніки, або способи отримання шляхом, описаним вище. Указані нижче сполуки спочатку виділяли як вільну основу, яку можна перетворювати до фармацевтично прийнятної солі для тестування.

Таблиця 3

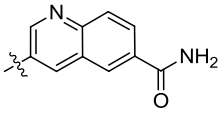


| Приклад | -R <sup>2</sup>   | Аналітичні дані   |
|---------|---|---|
| 28      |  | +EPI (M+H) 448.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.65 (br. s., 1 H), 8.13 (d, J=8.0 Гц, 1 H), 8.08 (d, J=2.2 Гц, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 7.36 (br. s., 1 H), 7.10 (d, J=8.0 Гц, 1 H), 6.79 (br. s., 1 H), 3.34-3.67 (m, 4 H), 2.77 (s, 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.51 (s, 9 H), 1.42-1.50 (m, 4 H).                 |
| 29      |  | +EPI (M+H) 449.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.63 (s, 1 H), 8.14 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 7.34 (s, 1 H), 7.18 (dd, J=8.3, 1.3 Гц, 1 H), 3.50-3.72 (m, 2 H), 3.21-3.39 (m, 2 H), 2.74 (s, 2 H), 2.53 (s, 2 H), 1.49 (s, 9 H), 1.22-1.61 (m, 4 H).                               |
| 30      |  | +EPI (M+H) 449.2; час утримування ВЕРХ 1.99 хвил. (Спосіб А)  |
| 31      |  | +EPI (M+H) 449.3; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.67 (s, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.75-7.79 (m, 1 H), 7.62 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 7.41 (dd, J=8.6, 1.6 Гц, 2 H), 3.31-3.71 (m, 4 H), 2.77 (br. s., 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.52 (s, 9 H), 1.39-1.50 (m, 4 H).  |
| 32      |  | +EPI (M+H) 448.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.70 (d, J=1.4 Гц, 1 H), 7.99 (br. s., 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.66 (s, 1 H), 7.42 (d, J=8.6 Гц, 1 H), 7.39 (br. s., 1 H), 7.21 (dd, J=8.4, 1.6 Гц, 1 H), 7.16 (d, J=1.4 Гц, 1 H), 3.49 (br. s., 4 H), 2.78 (s, 2 H), 2.56 (s, 2 H), 1.50 (s, 9 H), 1.48 (br. s., 4 H).      |
| 33      |  | -EPI (M-H) 446.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.68 (br. s., 1 H), 8.20 (d, J=0.8 Гц, 1 H), 8.07 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.46 (br. s., 1 H), 7.43 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 7.17 (dd, J=8.3, 1.7 Гц, 1 H), 6.82 (br. s., 1 H), 3.50 (br. s., 4 H), 2.78 (s, 2 H), 2.55 (s, 2 H), 1.53 (s, 9 H), 1.48 (br. s., 4 H). |

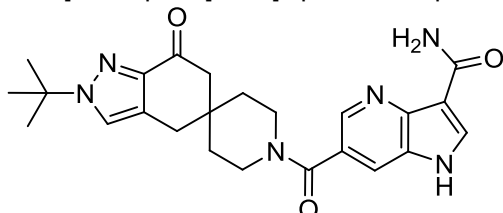
Продовження таблиці 3

| Приклад | -R <sup>2</sup> | Аналітичні дані   |
|---------|-----------------|---|
| 34      |                 | +EPI (M+H) 448.4; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 11.67 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 7.98 (br. s., 1 H), 7.79 (s, 1 H), 7.60 (d, J=8.2 Гц, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.36-7.40 (m, 1 H), 7.09-7.13 (m, 1 H), 7.02 (dd, J=8.3, 1.5 Гц, 1 H), 3.43 (br. s., 4 H), 2.75 (s, 2 H), 2.52 (s, 2 H), 1.37-1.55 (m, 13 H). |
| 35      |                 | <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.36 (br. s., 1 H), 7.75 (s, 1 H), 7.34 – 7.36 (m, 2 H), 7.24-7.26 (m, 1 H), 3.50 – 3.88 (m, 4 H), 2.91 (s, 2 H), 2.68 (s, 2 H), 1.62 (s, 9 H), 1.56-1.70 (m, 4 H).  |
| 36      |                 | <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.42-8.45 (m, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.65 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.47 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 3.65-4.00 (m, 2 H), 3.44-3.60 (m, 4 H), 2.90 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H), 1.26 (t, J=7.2 Гц, 3 H).                                  |
| 37      |                 | <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 13.70 (s, 1 H), 8.40-8.41 (m, 1 H), 8.19 (s, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 7.63 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.43 (d, J=8.4 Гц, 1 H), 3.40-3.80 (m, 4 H), 2.81 (d, J=4.4 Гц, 3 H), 2.80 (s, 2 H), 2.57 (s, 2 H), 1.40-1.60 (m, 13 H).  |
| 38      |                 | <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.31 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.68 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 7.50 (d, J=8.8 Гц, 1 H), 4.10-4.17 (m, 2 H), 3.65-4.00 (m, 2 H), 3.40-3.65 (m, 2 H), 2.90 (s, 2 H), 2.67 (s, 2 H), 1.50-1.80 (m, 4 H), 1.60 (s, 9 H).   |
| 39      |                 | <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 8.30 (s, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 7.31 (d, J=9.6 Гц, 2 H), 7.18-7.20 (m, 1 H), 3.40-3.95 (m, 4 H), 3.04 (s, 3 H), 2.88 (s, 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.60 (s, 9 H), 1.45-1.80 (m, 4 H).   |
| 40      |                 | +EPI (M+H) 446.3; час утримування ВЕРХ 2.07 хвил. (Спосіб А).   |
| 41      |                 | +EPI (M+H) 431.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD, δ): 7.93 (d, 1 H), 7.74 (d, 2 H), 7.40 (dd, 1 H), 3.70-4.00 (m, 2 H), 3.40-3.50 (m, 2 H), 2.89 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.65-1.80 (m, 2 H), 1.60 (s, 9 H), 1.50-1.65 (m, 2 H).   |
| 42      |                 | +EPI (M+H) 440.1; час утримування ВЕРХ 2.06 хвил. (Спосіб А).   |
| 43      |                 | +EPI (M+H) 431.3; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 7.89-7.92 (m, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 7.81 (dd, J=8.61, 0.78 Гц, 1 H), 7.54 (dd, J=8.71, 1.47 Гц, 1 H), 3.36-3.78 (m, 4 H), 2.79 (s, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 1.53 (s, 9 H), 1.41-1.52 (m, 4 H).  |

Продовження таблиці 3

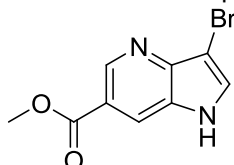
| Приклад | -R <sup>2</sup>   | Аналітичні дані  |
|---------|---|--|
| 44      |  | +EPI (M+H) 460.2; <sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> , δ): 8.94 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.56 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.47 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.18-8.24 (m, 2 H), 8.07 (d, J=8.78 Гц, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 3.57-3.77 (m, 2 H), 3.33-3.44 (m, 2 H), 2.77 (s, 2 H), 2.56 (s, 2 H), 1.53-1.61 (m, 2 H), 1.50 (s, 9 H), 1.45-1.50 (m, 2 H). |

Приклад 45: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл) карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбоксамід



5

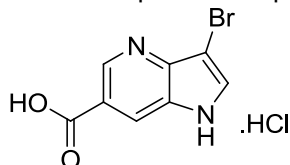
Етап 1. метил 3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилат



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в етапі 2 для інтермедіату 9, застосовуючи метил 1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилат. +EPI (M+H) 257.1; <sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.08 (br. s., 1 H), 8.92 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 8.30 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.10 (d, J=2.9 Гц, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

10

Етап 2. 3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбонова кислота гідрогенхлорид

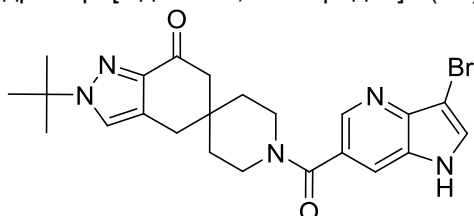


До розчину метил 3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоксилату (2.90 г, 11.4 ммол) у 1,4-діоксані (30 мл) додавали 6 N водн. хлоридну кислоту (18.9 мл, 114 ммол). Реакцію нагрівали до 90 °C та перемішували протягом ночі. Реакцію охолоджували до кімнатної температури та концентрували до сухого стану, що дало заголовну сполуку (2.76 г, кількісне). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ): 12.31 (br. s., 1 H), 8.91 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.14 (d, J=1.6 Гц, 1 H).

15

Етап 3. 1'-(3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоніл)-2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он

20



До суспензії 3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоної кислоти гідрогенхлориду (2.75 г, 9.91 ммол) та солі 2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-ону гідрогенхлориду (2.95 г, 9.91 ммол) у дихлорометані (30 мл) додавали триетиламін (5.52 мл, 39.6 ммол). Тоді додавали N, N-диіметилформамід (5 мл), а потім – 1-гідроксибензотриазол (1.61 г, 11.9 ммол) та 1 (3-диметиламінопропіл)-3-етил карбодіїмід гідрогенхлорид (2.28 г, 11.9 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом 60 год. Реакцію розбавляли етилацетатом та промивали насиченим водн. натрій гідрогенкарбонатом та розсолем. Органічні сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-10 % метанол / етилацетат), що дало заголовну сполуку (3.39 г, 71 %) як бліду

25

30

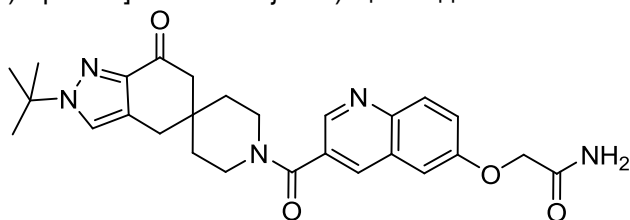
коричневу тверду речовину. +EPI (M+1+H) 486.2; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 10.05 (br. s., 1 H), 8.57 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 7.87 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 7.61 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 3.78 (br. s., 2 H), 3.51 (br. s., 2 H), 2.81 (s, 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.63 (s, 13 H).

Етап 4. 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбоксамід

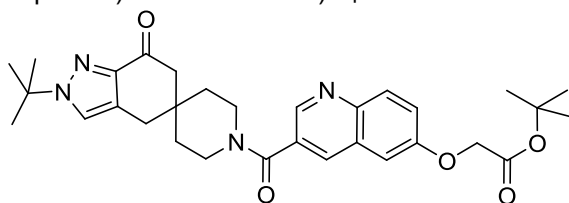
Круглодонну колбу завантажували 1'-(3-бромо-1H-піроло[3,2-b]піридин-6-карбоніл)-2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-оном (1.25 г, 2.58 ммол), цинк ціанідом (454 мг, 3.87 ммол), пилом цинку (169 мг, 2.58 ммол), та наприкінці диметилацетамідом (22 мл). Барботували азот через суміш протягом 5 хвил. Додавали купрум (I) іодид (494 мг, 2.58 ммол) та [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]дихлоропаладій(II), комплекс із дихлорометаном (189 мг, 0.258 ммол), та реакцію нагрівали до 120 °C протягом ночі. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом та фільтрували через Целіт. Фільтрат промивали натрій гідрогенкарбонатом (7 % водн.) та розсоллом. Органічні сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Сирий залишок розтирали з метил трет-бутил-етером та отриманий оранжевий порошок відфільтровували та сушили.

Порошок (550 мг) суспендували в дихлорометані (20 мл) та додавали концентровану сульфатну кислоту (1 мл). Реакцію перемішували енергійно протягом 3 год., тоді верхній шар дихлорометану декантували та відкладали. До залишеного коричневого сиропу додавали 50 г льоду, та pH регулювали до 7, застосовуючи 5 N водн. натрій гідроксид. Суміш комбінували з раніше відокремленим шаром дихлорометану та переносили до ділільної лійки. Фази відокремлювали та водний шар екстрагували двічі дихлорометаном. Комбіновані органічні промивали розсоллом, сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очищали флеш-хроматографією на колонці (0-10 % метанол / дихлорометан), що дало заголовну сполуку (420 мг, 73 %) як не зовсім білу тверду речовину. +EPI (M+H) 449.3; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 12.09 (br. s., 1 H), 8.49 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 8.24 (s, 1 H), 8.12 (br. s., 1 H), 7.93 (d, J=1.8 Гц, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 7.39 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 3.62 (br. s., 2 H), 3.43 (br. s., 2 H), 2.79 (s, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 1.53 (s, 13 H).

Приклад 46: 2-({3-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]хінолін-6-іл}окси)ацетамід

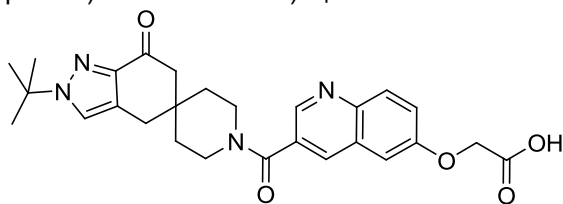


Етап 1: трет-бутил 2-(3-(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетат



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 3, застосовуючи 6-(2-трет-бутоксид-2-оксоетокси)хінолін-3-карбонову кислоту та сіль 2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-ону гідрогенхлориду. +EPI (M+H) 547.3; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.77 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.10 (d, J=1.6 Гц, 1 H), 8.06 (d, J=9.2 Гц, 1 H), 7.50 (dd, J=9.3, 2.8 Гц, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.02 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 4.64 (s, 2 H), 3.68-3.93 (m, 2 H), 3.41-3.51 (m, 2 H), 2.78 (s, 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.53-1.76 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H), 1.49 (s, 9 H).

Етап 2: 2-(3-(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)хінолін-6-ілокси)оцтова кислота

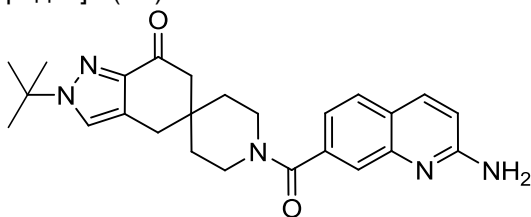


Хлоридну кислоту (10 мл, 40 ммол, 4 М у 1,4-діоксані) додавали до трет-бутил 2-(3-(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)хінолін-6-ілокси)ацетату (470 мг, 0.860 ммол). Реакцію перемішували енергійно при кімнатній температурі протягом 1 год. Реакцію концентрували. Залишок співвипаровували з етилацетатом та гептанами декілька разів, і тоді сушили під вакуумом для отримання заголовної сполуки (422 мг, 100 %). +EPI (M+H) 491.4; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 8.76 (d, J=2.0 Гц, 1 H), 8.35 (d, J=1.4 Гц, 1 H), 7.98 (d, J=9.2 Гц, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 7.52 (dd, J=9.3, 2.8 Гц, 1 H), 7.42 (d, J=2.9 Гц, 1 H), 4.82 (s, 2 H), 3.57-3.73 (m, 2 H), 3.34-3.50 (m, 2 H), 2.77 (s, 2 H), 2.56 (s, 2 H), 1.50 (s, 9 H), 1.44-1.58 (m, 4 H).

Етап 3: 2-({3-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]хінолін-6-іл}окси)ацетамід

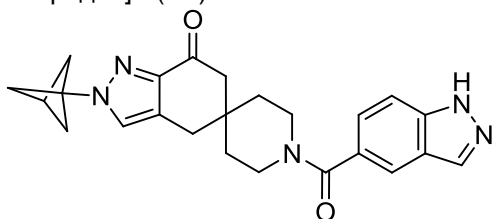
До суспензії 2-(3-(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-ілкарбоніл)хінолін-6-ілокси)оцтової кислоти (290 мг, 0.59 ммол) у дихлорометані (6 мл) додавали аміак (2.36 мл, 1.18 ммол, 0.5 М у 1,4-діоксан) та (1H-7-азобензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметил-уроніум-гексафлуорофосфат (225 мг, 0.591 ммол). Реакцію перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакцію концентрували та очищали флеш-хроматографією на колонці (0-10 % метанол / дихлорометан). Отриманий матеріал розчиняли в етилацетаті, промивали водою та розсоллом, сушили над магній сульфатом, фільтрували та концентрували, що дало заголовну сполуку (280 мг, 97 %). +EPI (M+H) 490.4; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.81 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.11 (d, J=2.1 Гц, 1 H), 8.06 (d, J=9.2 Гц, 1 H), 7.46 (dd, J=9.3, 2.8 Гц, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.11 (d, J=2.7 Гц, 1 H), 6.54 (br. s., 1 H), 5.66 (br. s., 1 H), 4.63 (s, 2 H), 3.68 – 3.96 (m, 2 H), 3.41 – 3.51 (m, 2 H), 2.78 (s, 2 H), 2.65 (s, 2 H), 1.66 – 1.76 (m, 2 H), 1.61 (s, 9 H), 1.50-1.60 (m, 2 H).

Приклад 47: 1'-[(2-амінохінолін-7-іл)карбоніл]-2-трет-бутил-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 25, застосовуючи сіль 2-трет-бутил-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-ону гідрогенхлориду. +EPI (M+H) 432.3; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.10 (d, J=9.21 Гц, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.76 (dd, J=7.95 Гц, 1 H), 7.49 (dd, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 6.87 (d, J=9.33 Гц, 1 H), 3.95 (m, 1 H), 3.64 (m, 1 H), 3.26-3.46 (m, 2 H), 2.79 (s, 2 H), 2.66 (s, 2 H), 1.57-1.80 (m, 4 H), 1.61 (s, 9 H).

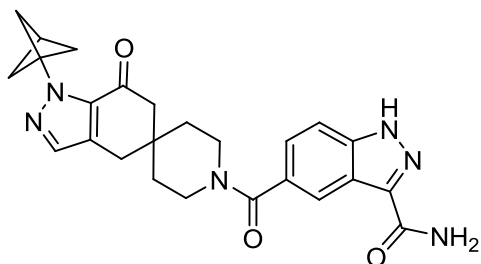
Приклад 48: 2-біцикло[1.1.1]пент-1-іл-1'-(1H-індазол-5-ілкарбоніл)-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он



Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 1, застосовуючи 2-(біцикло[1.1.1]пентан-1-іл)-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(2H)-он та 1H-індазол-5-карбонову кислоту. +EPI (M+H) 416.2; час утримання ВЕРХ 2.32 хвил. (Спосіб А).

Приклад 49: 5-[(1-біцикло[1.1.1]пент-1-іл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід



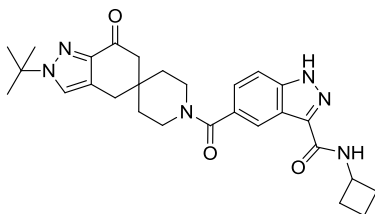
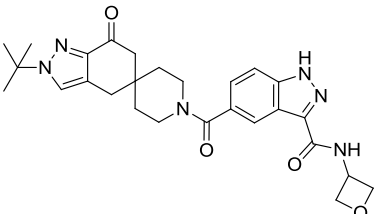
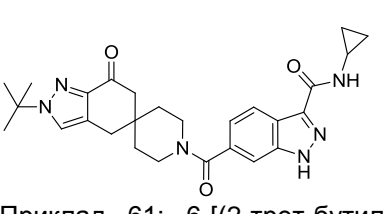
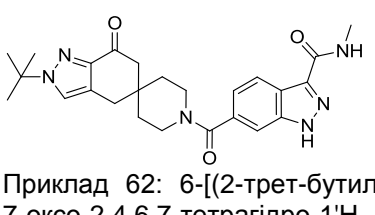
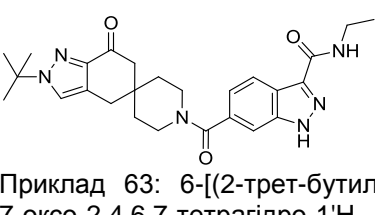
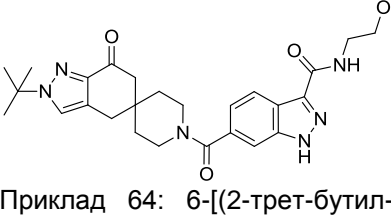
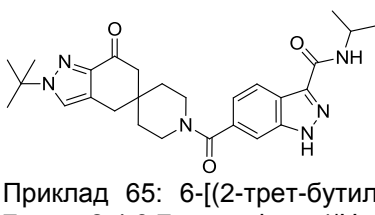
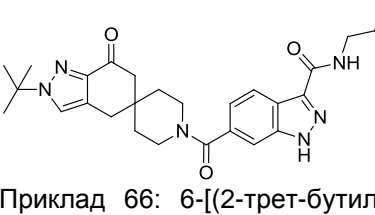
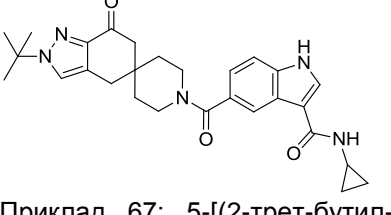
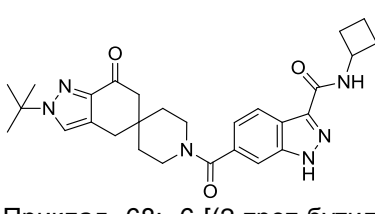
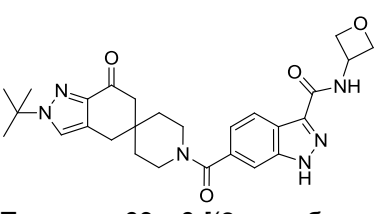
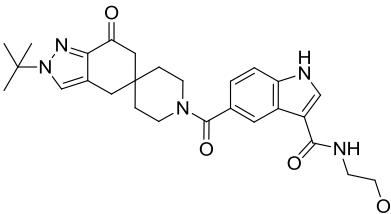


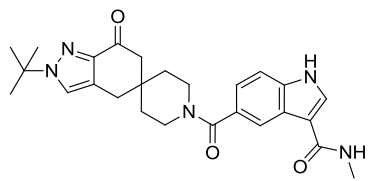
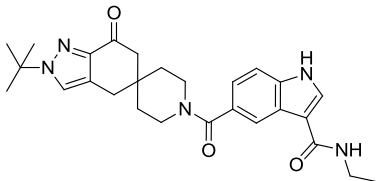
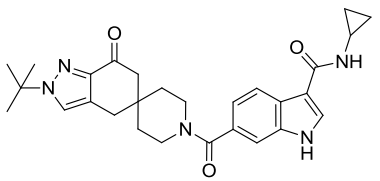
Заголовну сполуку отримували способом, аналогічним описаному в прикладі 2, застосовуючи 1-(біцкло[1.1.1]пентан-1-іл)-4,6-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(1H)-он гідрогенхлорид та 3-карбамоіл-1H-індазол-5-карбонову кислоту. +XIAT (M+H) 459.5; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, δ): 8.42 (s, 1 H), 7.50 (s, 2 H), 7.35 (s, 1 H), 6.93 (br. s., 1 H), 5.47 (br. s., 1 H), 3.32-3.93 (m, 4 H), 2.79 (s, 2 H), 2.58 (s, 2 H), 2.56 (s, 1 H), 2.39 (s, 6 H), 1.45-1.76 (m, 4 H).

Наступні сполуки, показані в таблиці 4, можна отримувати способами, аналогічними описаним у попередніх прикладах.

Таблиця 4:

|   |   |  |
|---|---|--|
| <p>Приклад 50: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбонітрил</p> | <p>Приклад 51: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-3-карбонітрил</p> | <p>Приклад 52: 1'-[(2-амінохінолін-6-іл)карбоніл]-2-трет-бутил-2,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он</p>                                       |
| <p>Приклад 53: 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1H-індол-3-карбоксамід</p>         | <p>Приклад 54: 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1H-індол-3-карбоксамід</p>         | <p>Приклад 55: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1H-індазол-3-карбоксамід</p>     |
| <p>Приклад 56: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-ізопропіл-1H-індазол-3-карбоксамід</p>  | <p>Приклад 57: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-пропіл-1H-індазол-3-карбоксамід</p>     | <p>Приклад 58: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2-метоксиетил)-1H-індазол-3-карбоксамід</p> |

|   |  |  |
|---|--|--|
|  <p>Приклад 59: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклобутил-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>   |  <p>Приклад 60: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-оксетан-3-іл-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>   |  <p>Приклад 61: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>     |
|  <p>Приклад 62: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>        |  <p>Приклад 63: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-етил-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>           |  <p>Приклад 64: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2-метоксиетил)-1Н-індазол-3-карбоксамід</p> |
|  <p>Приклад 65: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-ізопропіл-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>  |  <p>Приклад 66: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-пропіл-1Н-індазол-3-карбоксамід</p>       |  <p>Приклад 67: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1Н-індол-3-карбоксамід</p>     |
|  <p>Приклад 68: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклобутил-1Н-індазол-3-карбоксамід</p> |  <p>Приклад 69: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-оксетан-3-іл-1Н-індазол-3-карбоксамід</p> |  <p>Приклад 70: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2-метоксиетил)-1Н-індол-3-карбоксамід</p> |

|  |  |  |
|--|--|--|
|  <p>Приклад 71: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1Н-індол-3-карбоксамід</p> |  <p>Приклад 72: 5-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-етил-1Н-індол-3-карбоксамід</p> |  <p>Приклад 73: 6-[(2-трет-бутил-7-оксо-2,4,6,7-тетрагідро-1'Н-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-циклопропіл-1Н-індол-3-карбоксамід</p> |
|--|--|--|

## Фармакологічні дані

## Біологічні протоколи

5 Корисність сполук заявленого винаходу, у лікуванні хвороб (як-то деталізовані тут) у тварин, конкретно, ссавців (наприклад, людей) можна продемонструвати згідно з їх активністю в звичайних аналізах, відомих спеціалісту в рівні техніки, охоплюючи описані нижче аналізи *in vitro* та *in vivo*. Такі аналізи також надають способи співставлення активностей сполук заявленого винаходу з активностями інших відомих сполук.

10 Безпосереднє інгібування активностей ACC1 та ACC2

Активність сполуки заявленого винаходу в інгібуванні ACC показано способами, базованими на стандартних способах. Наприклад, безпосереднє інгібування активності ACC для сполук формули (I) визначали, застосовуючи приготуванням рекомбінантної ACC1 людини (rhACC1) та рекомбінантної ACC2 людини (rhACC2). Типові послідовності рекомбінантної ACC1 людини та ACC2, які можна застосовувати в аналізі, передбачено тут як SEQ ID NO. 1 та SEKB. ID NO. 2, відповідно. [1] Приготування rhACC1. Дві літри клітин SF9, інфікованих рекомбінантними бакуловірусами, які містять усю довжину ACC1 кДНК людини, суспендували в наступному: льодяний буфер лізису (25 мМ Трис, pH 7.5; 150 мМ NaCl; 10 % гліцерин; 5 мМ імідазол (EMD Bioscience; Gibbstown, NJ); 2 мМ TCEP (BioVectra; Charlottetown, Canada); бензоназа-нуклеаза (10000U/100 г клітинної пасти; Novagen; Madison, WI); EDTA-вільний коктейль інгібітору протеази (1 табл/50 мл; Roche Diagnostics; Mannheim, Germany). Клітини лізували 3 циклами заморожування та відтавання при 40,000 X г протягом 40 хвил. (4 °C). Надосад безпосередньо завантажували в сиру колонку HisTrap FF (GE Healthcare; Piscataway, NJ) та елюювали із градієнтом імідазолу до 0.5 М через 20 об'ємів колонки (CV). Фракції, які містять ACC1, поєднували та розбавляли 1:5 25 мМ Трис, pH 7.5, 2 мМ TCEP, 10 % гліцерином і безпосередньо завантажували до колонки CaptoQ (GE Healthcare) та елюювали NaCl із градієнтом до 1 М через 20 об'ємів колонки. Групи фосфату видаляли з очищеного ACC1 інкубацією лямбда-фосфатазою (100U/10 мкМ білок мішені; New England Biolabs; Beverly, MA) протягом 14 год. при 4 °C; для інгібування фосфатази додавали окадіак-кислоту (кінцева концентрація 1 мкМ; Roche Diagnostics). Очищену ACC1 замінювали на 25 мМ Трис, pH 7.5, 2 мМ TCEP, 10 % гліцерині, 0.5 М NaCl діалізом протягом 6 год. при 4 °C. Відбирали аліквоти та заморожували при -80 °C.

30 [2] Вимірювання інгібування rhACC1. Аналізували hACC1 в 384-лунковому планшеті Costar #3676 (Costar, Cambridge, MA), застосовуючи набір реактивів Transcreener ADP detection FP (Bellbrook Labs, Madison, Wisconsin), застосовуючи умови, рекомендовані товаровиробником для реакції 50 мкМ АТФ. Кінцеві умови для аналізу: 50 мМ HEPES, pH 7.2, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 7.5 мМ трикалій цитрат, 2 мМ DTT, 0.1 мг/мл BSA, 30 мкМ ацетил-CoA, 50 мкМ АТФ, та 10 мМ KHCO<sub>3</sub>. Типово, у 10 мкл реакції перебіг часу дорівнював 120 хвил. при 25 °C, і додавали 10 мкл Transcreener-стоп і буфер для виявлення, і комбінацію інкубували додатково при кімнатній температурі протягом 1 год. Дані отримували на зчитувачі Envision Fluorescence (Perkinelmer), застосовуючи загальне подвійне дзеркало Cy5 FP збудження 620, фільтр Cy5 FP збудження 620, випромінювання 688 (S) та фільтр випромінювання 688 (P).

45 [3] Приготування rhACC2. Інгібування ACC2 людини вимірювали, застосовуючи очищену рекомбінантну ACC2 людини (hrACC2). Коротко, клон повної довжини Cytomax ACC2 закуповували в Cambridge Bioscience Limited та впорядковували й клонували в pCDNA5 FRT TO-TOPO (Invitrogen, Carlsbad, CA). ACC2 експресували в клітини CHO індукцією тетрацикліну та збирали в 5 літрах DMEM/F12 із глутаміном, біотином, гідроміцином та бластицидином з 1

мкг/мл тетрацикліну (Invitrogen, Carlsbad, CA). Кондиціоноване середовище, яке містить ACC2, тоді застосовували до колонки Softlink Soft Release Avidin (Promega, Madison, Wisconsin) та елюювали 5 мМ біотину. елюювані 4 мг ACC2 мали концентрацію 0.05 мкг/мл (визначено A280) з визначеною чистотою 95 % (визначено A280). Очищену ACC2 діалізували в 50 мМ Трис, 200 мМ NaCl, 4 мМ DTT, 2 мМ EDTA, та 5 % гліцерині. Поєднаний білок заморожували та зберігали при -80 °C без втрати активності після відтавання. Для вимірювання активності ACC2 та оцінювання інгібування ACC2 сполуки тесту розчиняли в ДМСО та додавали до ферменту hACC2 як 5x запас із кінцевою концентрацією ДМСО 1 %.

[4] Вимірювання інгібування ACC2 людини. hACC2 аналізували в 384-лунковому планшеті Costar #3676 (Costar, Cambridge, MA), застосовуючи набір реактивів Transcreener ADP detection FP (Bellbrook Labs, Madison, Wisconsin), застосовуючи умови, рекомендовані товаровиробником для реакції 50 мкМ АТФ. Кінцеві умови для аналізу: 50 мМ HEPES, pH 7.2, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ трикалій цитрат, 2 мМ DTT, 0.1 мкг/мл BSA, 30 мкМ ацетил-CoA, 50 мкМ АТФ, та 8 мМ KHCO<sub>3</sub>. Типово, у 10 мкл реакції перебіг часу дорівнював 50 хвил. при 25 °C, і додавали 10 мкл Transcreener-стоп і буфер для виявлення, та комбінацію інкубували додатково при кімнатній температурі протягом 1 год. Дані отримували на зчитувачі Envision Fluorescence (PerkinElmer), застосовуючи загальне подвійне дзеркало Cy5 FP збудження 620, фільтр Cy5 FP збудження 620, випромінювання 688 (S) та фільтр випромінювання 688 (P).

Результати описаних вище Transcreener-аналізів із застосуванням рекомбінантної hACC1 та рекомбінантної hACC2 підсумовано нижче в таблиці для сполук формули (I), наведених вище в прикладах.

| Приклад | hACC1 IK50 (нМ) | n  | hACC2 IK50 (нМ) | n  |
|---------|-----------------|----|-----------------|----|
| 1       | 6.0             | 6  | 1.4             | 6  |
| 2       | 7.9             | 12 | 3.1             | 12 |
| 3       | 32              | 6  | 13              | 6  |
| 4       | 6.5             | 7  | 2.9             | 7  |
| 5       | 17              | 4  | 5.8             | 4  |
| 6       | 11              | 4  | 2.9             | 4  |
| 7       | 5.6             | 4  | 1.6             | 4  |
| 8       | 17              | 3  | 3.3             | 3  |
| 9       | 8.4             | 3  | 2.9             | 3  |
| 10      | 6.1             | 3  | 2.7             | 3  |
| 11      | 14              | 3  | 5.5             | 3  |
| 12      | 13              | 5  | 3.0             | 5  |
| 13      | 2.4             | 3  | 1.5             | 3  |
| 14      | 5.0             | 5  | 2.1             | 5  |
| 15      | 14              | 3  | 2.6             | 3  |
| 16      | 6.7             | 3  | 3.1             | 3  |
| 17      | 19              | 3  | 11              | 3  |
| 18      | 33              | 3  | 22              | 3  |
| 19      | 63              | 3  | 15              | 3  |
| 20      | 13              | 4  | 3.0             | 4  |
| 21      | 47              | 4  | 6.7             | 4  |
| 22      | 30              | 3  | 6.9             | 3  |
| 23      | 32              | 3  | 15              | 3  |
| 24      | 43              | 1  | 20              | 1  |
| 25      | 12              | 2  | 10              | 1  |
| 26      | 7.4             | 3  | 2.1             | 3  |
| 27      | 5.5             | 3  | 3.5             | 3  |
| 28      | 6.5             | 5  | 1.3             | 5  |
| 29      | 8.6             | 6  | 1.7             | 7  |
| 30      | 9.4             | 4  | 2.6             | 4  |
| 31      | 3.8             | 4  | 1.3             | 4  |
| 32      | 8.1             | 4  | 1.5             | 4  |
| 33      | 3.1             | 4  | 1.0             | 4  |
| 34      | 8.1             | 3  | 2.8             | 3  |
| 35      | 12              | 4  | 1.4             | 4  |
| 36      | 4.0             | 5  | 1.7             | 5  |

| Приклад | hACC1 IK50 (нМ) | n | hACC2 IK50 (нМ) | n |
|---------|-----------------|---|-----------------|---|
| 37      | 2.9             | 7 | 1.3             | 7 |
| 38      | 4.3             | 3 | 1.1             | 3 |
| 39      | 9.8             | 3 | 1.5             | 3 |
| 40      | 2.2             | 3 | 1.3             | 3 |
| 41      | 18              | 7 | 3.7             | 7 |
| 42      | 6.6             | 3 | 1.8             | 3 |
| 43      | 6.4             | 4 | 2.8             | 4 |
| 44      | 31              | 3 | 5.4             | 3 |
| 45      | 23              | 4 | 2.8             | 4 |
| 46      | 14              | 3 | 3.8             | 3 |
| 47      | 5.3             | 4 | 1.3             | 4 |
| 48      | 32              | 3 | 5.6             | 3 |
| 49      | 12              | 3 | 8.4             | 3 |

SEKB. ID NO. 1 надає послідовність рекомбінантної ACC1 людини (SEKB. ID NO. 1), яку можна застосовувати в Transcreeper-аналізі in vitro.

5 Послідовність hACC1

SEKB. ID NO. 1:

MAHHHHHHDEVDDEPSPLAQPLELNQHSRFIIGSVSEDNSEDEISNLVKLDLLEKEGSLSPASVG  
SDTLSDLGISSLQDGLALHIRSSMSGHLHLVKQGRDRKKIDSQRDFTVASPAEFVTRFGGNKVEIKVLIA  
NNGIAAVKCMRSIRRWSEYEMFRNERAIRFVVMVTPEDLKANAIEYIKMADHYVPVPGGPNNNNYANVE  
10 LILDIKRIPVQAVWAGWGMAEENPKLPELLLNKNGIAFMGPPSQAMWALGDKIASSIVAQTAGIPTLPW  
SGSGLRVDWQENDFSKRILNVPQELYEKGYVKDVEDDGLQAAEEVGYPVMIKASEGGGGKGIRKVN  
ADDFPNLFRQVQAEVPGSPIFVMRLAKQSRHLEVQILADQYGNALSLFGRDCSVQRRHQKIEEAPATI  
ATPAVFEHMEQCAVKLAKMVGYSAGTVEYLYSQDGSFYFLELNPRLQVEHPCTEMVADVNLPAQAQ  
LQIAMGIPLYRIKDIRMMYGVSPWGDSPIDFEDSAHVPCPRGHVIAARITSENPDEGFKPSSGTVQELN  
15 FRSNKNVWGYFSVAAAGGLHEFADSQFGH  
CFSWGGENREEAISNMVVALKELSIRGDFRTTVEYLIKLLLETESFQMNRIIDTGWLDRLIAEKVQAERPDT  
MLGVVCGALHADVSLRNSVSNFLHSLERGQVLPAAHTLLNTVDVELIYEGVKYVLKVTRQSPNSYVVI  
MNGSCVEVDVHRLSDGGLLSYDGSSYTTYMKEEVDRIYRITIGNKTCVFEKENDPSVMRSPSAGKLI  
QYIVEDGGHVFAQCQYAEIEVMKMMVMTLTAVESGCIHYVKRPGAALDPCVLAKMQLDNPSKVQQA  
20 ELHTGSLPRIQSTALRGEKLRHVFHYVLDNLVNMNGYCLPDPFFSSKVVDWVERLMKTLRDPSPPL  
LELQDIMTSVSGRIPPVNEKSIKKEMAQYASNITSVLCQFSPSQIANILDSHAATLNRKSEREVFFMNT  
QSIVQLVQRYRSGIRGHMKAVVMDLLRQYLRVETQFQNGHYDKCVFALREENKSDMNTVLNYIFSHA  
QVTCKNLLVTMLIDQLCGRDPTLTDELLNLTQLSKTTNAKVALRARQVLIASHLPSYELRHNQVES  
IFLSAIDMYGHQFCIENLQKLILSETSIFDVLNPFYHSNQVVRMAALEVYVRRAYIAYELNSVQHRQLK  
25 DNTCVVEFQFMLPTSHPNRGNIPTLNRMFSNNLNHYGMTHVASVSDVLLDNSFTPPCQRMGMVS  
FRTFEDFVRIFDEVMGCFSDSPQSPPTFPEAGHTSLYDEDEKVPREPIHILNVAIKTDCDIEDDRLAAM  
FREFTQQNKATLVDHGIRRLTFLVAQKDFRKQVNYEVDRRFHREFPKFFTFRRARDKFEDRIYRHLEP  
ALAFQLELNRMRNFDLTAIPCANHKMHLYLGAAKVEVGTEVTDYRFFVRAIRHSDLVTKEASFAYELQN  
EGERLLEAMDELEVAFNNTNVRTDCNHIFLNFPVPTVIMDPSKIEESVRSMMVMRYGSRWLKRLVLQAE  
30 LKINIRLTPTGKAIPRLFLTNEGYYLDISLYKEVTDSTRTAQIMFQAYGDKQGPHLHMLINTPYVTKDLL  
QSKRFQAQSLGTTYIYDIPEMFRQSLIKLWESMSTQAFLPSPPLPSDMLTYELVDDQGLVHNMRL  
PGGNEIGMVAWKMTFKSPEYPEGREDIIVIGNDITYRIGSFGPQEDLLFLRASELARAEGIPRIYVSANS  
ARIGLAEIEIRHMFHVAWVDPEDPYKGYRYLYLTPQDYKRVSAVNSVHCEHVEDEGESRYKITDIIGKE  
EGIGPENLRGSGMIAGESSLAYNEIITISLVTCAIGIGAYLVRLGQRTIQVENSILITGAGALNKVLGR  
35 EVYTSNNQLGGIIMHNNGVTHCTVCDDFEGVFTVLHWLSYMPKSVHSSVPLLNSKDPIDRIIEFVPT  
KTPYDPRWMLAGRPHPTQKQWLSGFFDYGSFSEIMQPWAQTVVVGARLGGIPVGVVAVETRTV  
ELSIPADPANLDSEAKIIQQAGQVWFPDSAFKTYQAIKDFNREGLPLMVANWRGFSGGMKDMYDQV  
LKFGAYIVDGLRECCQPVLYIPPQAEIRGGSWVVIDSSINPRHMEMYADRESRGSVLEPEGTVEIKF  
RRKDLVKTMRRVDPVYIHLAERLGTPELSTAERKELENKLEREEFLIPIYHQVAVQFADLHDTGRM  
40 QEKGVISDILDWKTSTRTFFYWRLLRLLEDLVKKKIHNANPELTDGQIQAMLRWFVEVEGTVKAYVW  
DNNKDLAEWLEKQLTEEDGVHSHVIEENIKCISRDYVLKQIRSLVQANPEVAMDSIIHMTQHISPTQRAE  
VIRILSTMDSPST

SEKB. ID NO. 2 надає послідовність рекомбінантної ACC2 людини (SEKB. ID NO. 2), яку можна застосовувати в Transcreeper-аналізі in vitro.

45 Послідовність hACC2

SEKB. ID NO. 2:

MVLLCLCLIFSCLTFSWLKIWGKMTDSKPITKSKSEANLIPSQEPFPASDNSGETPQRNGEGHT  
 LPKTPSQAEPASHKGPDKAGRRRNSLPPSHQKPPRNPLSSSDAAPSPELQANGTGTQGLEATDTNG  
 LSSSARPGQQAGSPSKEDKKQANIKRQLMTNFILGSFDDYSSDEDSVAGSSRESTRKGSRASLGAL  
 SLEAYLTGAEATRVPTMRPSMSGLHLVKRGREHKLDLHRDFTVASPAEFVTRFGGDRVIEKVLIAN  
 5 NGIAAVKCMRSIRRWAYEMFRNERAIRFVVMVTPEDLKANA EYIKMADHYVPVPGGPNNNNYANVEL  
 IVDIAKRIPVQAVWAGWGMAEENPKLPELLCKNGVAFLGPPSEAMWALGDKIASTVVAQTLQVPTLP  
 WSGSGLTVEWTEDDLQQKGRISVPEDVDKGCVKDVGDEGLEAAERIGFPLMIKASEGGGGKGRKA  
 ESAEDFPILFRQVQSEIPGSPIFLMKLAQHARHLEVQILADQYGNVSLFGRDCSIQRRHQKIVEEAPA  
 TIAPLAIFEFMEQCAIRLAKTVGYVSAGTVEYLYSQDGSFHFLELNPRLQVEHPCTEMIADVNLPAQQL  
 10 QIAMGVPLHRLKDIRLLYGESPGVTPISFETPSNPPLARGHVIAARITSENPDGFKPSSGTVQELNF  
 RSSKNVWGYFSAATGGLHEFADSQFGHCFSWGENREEAISNMVVALKELSIRGDFRTTVEYLINLL  
 ETESFQNNIDITGWLDYLIAEKVQAEKPDIMLGVCAGALNVADAMFRTCMTDFLHSLERGQVLPADS  
 LLNLVDVELIYGGVKYILKVARQSLTMFVLMNGCHIEIDAHRLNDGGLLLSYNGNSYTTYMKEEVDSY  
 RITIGNKTCVFEEKENDPTVLRSPSAGKLTQYTVEDGGHVEAGSSYAEMEVMKIMITLNVQERGRVKY  
 15 IKRPGAVLEAGCVVARLELDDPSKVHPAEPFTGELPAQQTLPILGEKLHQVFHSLVENLTNVMMSGFCL  
 PEPVFSIKLKEWVQKLMMLTRHPSLPLLELQEIMTSVAGRIPAPVEKSVRRVMAQYASNITSVLCQFPS  
 QQIATILDCHAATLQRKADREVFFINTQSIVQLVQRYRSGIRGYMKTVVDLLRRYLVEHHFQQAHYD  
 KCVINLREQFKPDMSQVLDICFSHAQVAKKNQLVIMLIDELCGPDPSLDELISILNELTQLSKSEHCKV  
 ALRARQILIASHLPSEYELRHNQVESIFLSAIDMYGHQFCPENLKKLILSETTIFDVLPTFFYHANKVVCMA  
 20 SLEVYVRRGYIAYELNSLQHRQLPDGTCVVEFQFMLPSSHPNRMTVPISITNPDLLRHSTELFMDSGF  
 SPLCQRMGAMVAFRRFEDFTRNFDEVISCFANVPKDTPLFSEARTSLYSEDDCKSLREEPIHILNVSQ  
 CADHLEDEALVPILRTFVQSKKNILVDYGLRRITFLIAQEKEFPKFFTFRARDEFAEDRIYRHLEPALAF  
 QLELNMRMRNFDLTAVPCANHKMHLYLGAACKVKEGVEVTDHRRFFIRAIRHSDLTKEASFEYLQNEGER  
 LLEAMDELEVAFNNTSVRTDCNHIFLNFVPTVIMDPFKIEESVRYMVMRYGSRLWKLRLVQAEVKINI  
 25 RQTTTGSAPVIRLITNESGYLDISLYKEVTDSRSGNIMFHSFGNKQGPQHGLINTPYVTCKDLLQAK  
 RFQAQTLGTTYIYDFPEMFRQALFKLWGPDPKYPKDILTYTELVLDSSQGLVEMNRLPGGNEVGMVA  
 FKMRFKTQEYPEGRDVIVIGNDITFRIGSFGPGEDLLYLASEMARAEGIPKIYVAANS GARIGMAEEIK  
 HMFHVAWVDPEDPHKGFKYLYLTPQDYTPICSLNSVHCKHIEEGGESRYMITDIIGKDDGLGVENLR  
 GSGMIAGESSLAYEEIVTISLVTCAIGIGAYLVRLGQRVIQVENSHIITGASALNKVLGREVYTSNNQL  
 30 GGVQIMHYNGVSHITVPDDFEGVYTILEWLSYMPKDNHSPVPIITPTDPIDREIEFLPSRAPYDPRWML  
 AGRPHPTLKGTVQSGFFDHGSFKEIMAPWAQTVVTGRARLGIGIPVGVIIVETRTVEVAVPADPANLD  
 SEAKIIQQAGQVWFPDSAYKTAQAIDFNREKLPLMIFANWRGFGSGMKMDMYDQVLKFGAYIVDGLR  
 QYKQPILYIPPYAELRGGSWVVIDATINPLCIEMYADKESRGGVLEPEGTVEIKFRKKDLIKSMRRIDPA  
 YKKLMEQLGEPDLSKDRKDLLEGRLKAREDLLPIYHQVAVQFADFHDTPGRMLEKGVISDILEWKTA  
 35 RTFLYWRLLRLLLEDQVKQELQASGELSHVHIQSMLRRWVETEGAVKAYLWDNNQVVVQWLEQH  
 WQAGDGPRSTIRENITYLKHDSVLKTIRGLVEENPEVAVDCVIYLSQHISPAERAQVVHLLSTMDSPAS  
 T

Висока оцінка *in vivo* інгібування ACC у експериментальних тварин

Інгібіторну активність ACC сполук заявленого винаходу можна підтверджувати *in vivo*  
 40 визначенням їх здатності зменшувати рівні малоніл-Co у печінці та тканині м'язу оброблених тварин.

Вимірювання продуктивного інгібування малоніл-CoA в експериментальних тварин можна  
 визначати, застосовуючи наступну методологію.

У цей спосіб самців щурів Sprague-Dawley, утримуваних на стандартній їжі та воді за  
 45 бажанням (225-275 г), рандомізували до дослідження. Тварин до початку експерименту  
 годували або піддавали голодуванню протягом 18 год. удень у двогодинному циклі тварин  
 перорально дозували об'ємом у 5 мл/кг, (0.5 % метилцелюлоза; наповнювач) або із придатною  
 сполукою (виготовленою в наповнювачі). Контролі нагодованого наповнювача охоплювали  
 50 визначення рівнів малоніл-Co базисної тканини, тоді як у негодованих тварин визначали дію  
 голодування на рівні малоніл-Co. Одну годину після застосування сполуки тварин піддавали  
 асфіксії в CO<sub>2</sub> та тканини видаляли. Конкретно, кров збирали уколом у серце та розміщували в  
 трубки BD Microtainer, які містять EDTA (BD Biosciences, NJ), змішували та розміщували на лід.  
 Плазму застосовували для визначення впливу ліків. Печінку та чотириголовий м'яз видаляли,  
 негайно затискали для заморожування, загортали у фольгу та зберігали в рідкому азоті.

Тканини розпилювали під рідким N<sub>2</sub> для забезпечення однорідності при відборі проби.  
 Малоніл-CoA екстрагували із тканини (150-200 мг) 5 об'ємами 10 % трикарбонової кислоти в  
 Lysing Matrix A (MP Biomedicals, PN 6910) у FastPrep FP120 (Thermo Scientific, швидкість=5.5;  
 55 протягом 45 секунд). Надосад, який містить малоніл-CoA, видаляли з уламків клітини після  
 центрифугування при 15000 x g протягом 30 хвил. (Центрифуга – Eppendorf Centrifuge 5402).  
 60 Зразки стабільно заморожували при -80C до завершення аналізу. Аналіз рівнів малоніл Co у

печінці та тканині м'язу можна оцінювати, застосовуючи наступну методологію.

Спосіб застосування наступних матеріалів: сіль малоніл-CoA тетралітію та сіль малоніл-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-CoA трилітію, які закупували в Isotec (Miamisburg, OH, USA), натрій перхлорат (Sigma, cat no. 410241), трихлорооцтова кислота (ACROS, cat no. 42145), фосфорна кислота (J.T. Baker, cat no. 0260-01), амоній форміат (Fluka, cat no. 17843), метанол (якість BEPX, J.T. Baker, cat no. 9093-33), та вода (якість BEPX, J.T. Baker, 4218-03) застосовували для отримання потрібних мобільних фаз. Твердофазові колонки для оперативної екстракції Strata-X, 25 мкм, 20 мм x 2.0 мм I.D (cat no. 00M-S033-B0-CB) отримували від Phenomenex (реверсно-фазові колонки Torrance, CA, USA). SunFire C18, 3.5 мкм, 100 мм x 3.0 мм I.D. (cat no.186002543) закупували в Waters Corporation (Milford, MA, USA).

Для цього способу можна застосовувати наступне встаткування: двовимірна хроматографія із застосуванням бінарного насосу Agilent 1100, четвертинного насосу Agilent 1100 та двох 6-канальних двопозиційних клапанів Valco Cheminert. Зразки вводили через автоматичний пробовідбірник LEAP HTC PAL з охолодженням блоком Peltier з утриманням при 10 °C та пристроєм для відбору проби 20 мкл. Розчини для промивання голки пробовідбірника були наступними: 10 % трихлорооцтова кислота у воді (маса в об'ємі) для промивання 1 та 90:10 метанол:вода для промивання 2. Аналітичну колонку (Sunfire) тримали при 35 °C, застосовуючи термостат для колонки MicroTech Scientific Micro-LC. Елюент аналізували на потрібному квадрупольному мас-спектрометрі ABI Sciex API3000 із турбойонним розпилювачем Turbo Ion Spray.

Двовимірну хроматографію робили паралельно із застосуванням відмінних умов градієнту елюювання для оперативної твердофазової екстракції та реверсно-фазової хроматографії. Генеральний задум способу полягав у тому, що перший вимір застосовували для чищення зразку та збору даних цікавої речовини, визначеної при аналізі, а потім – коротке сполучення обох визначень для елюювання від першого виміру на другий вимір. Потім виміри роз'єднували, дозволяючи квантифікацію градієнта елюювання речовини, визначеної при аналізі від другого виміру, одночасно, послідовно отримуючи перший вимір для наступного зразку. Якщо обидва виміри були коротко сполучені разом, потік мобільної фази в першому вимірі реверсували для елюювання речовини, визначеної при аналізі, на другий вимір, робили можливі умови для оптимальної ширини піку, конфігурації піку та часу елюювання.

Для першого виміру системи BEPX застосовували твердофазову колонку для оперативної екстракції Phenomenex strata-X та мобільну фазу, яка складалася з 100 мМ натрій перхлорату / 0.1 % (об. %) фосфорної кислоти для розчиннику А та метанолу для розчиннику В.

Для другого виміру системи BEPX застосовували реверсно-фазову колонку Waters SunFire C18 та мобільну фазу, яка складалася з 100 мМ амоній форміату для розчиннику А та метанолу для розчиннику В. Вихідний стан градієнту втримували протягом 2 хвил. та протягом цього часу речовину для аналізу переносили до аналітичної колонки. Важливо, щоб кількість вихідного стану була достатньою для елюювання визначеної при аналізі речовини на колонці оперативного режиму SPE, утримуючи його на аналітичному рівні. Потім градієнт зростає лінійно до 74.5 % А за 4.5 хвил. перед промиванням та етапом урівноважування.

Мас-спектрометрія при сполученні з BEPX може бути високоселективним та чутливим способом для кількісного аналізу речовин у комплексній матриці, але ще є залежною від взаємовпливу блокування. Сполучення двох вимірів BEPX із мас-спектрометром значно зменшує ці перешкоди. Крім того, застосуванням багатократного моніторингу реакції Multiple Reaction Monitoring (MRM) потрібного чотирьохполюсного мас-спектрометра значно покращували співвідношення сигнал - шум.

Для цього аналізу мас-спектрометр працював у способі позитивного іону з напругою TurbolonSpray 2250 В. Розпилювальний газ нагрівали до 450 °C. Потенціал розосередження (DP), потенціал фокусування (FP) та енергію зіткнень (CE) установлювали 60, 340, та 42 В, відповідно. Квадрупольну 1 (Q1) розв'язну здатність установлювали нижче одиниці розв'язної здатності квадрупольної 3 (Q3). Газ CAD встановлювали до 8. Спостережений перехід MRM для малоніл CoA був: 854.1→347.0 м/з (L. Gao та інші (2007) J. Chromatogr. B 853,303–313); та для малоніл-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-CoA: 857.1→350.0 м/з з витримками часу 200 мс. Елюент відводили до мас-спектрометра близько очікуваного часу елюювання для речовини, визначеної при аналізі, інакше це відкидали, щоб зберегти джерело та покращити стійкість приладу. Отримані хроматограми інтегрували, застосовуючи програму Analyst software (Applied Biosystems). Концентрації тканини для малоніл CoA розраховували зі стандартної кривої, отриманої в 10 % розчині трихлорооцтової кислоти у воді.

Зразки, які охоплені стандартною кривою для способу розрахунку малоніл-CoA у екстрактах тканини отримували в 10 % (маса в об'ємі) трихлорооцтовій кислоті (TCA) у межах 0.01 – 1

пкмол/мкл. Малоніл- $^{13}\text{C}_3$ -CoA (кінцева концентрація – 0.4 пкмол/мкл) додавали до кожної складової стандартної кривої та зразок як внутрішній стандарт.

- 5 Отримували шість внутрішніх контролів якості аналізу; три – від поєднаного екстракту отриманого від голодних тварин та три від годуваних тварин. Це були як незалежні зразки з 0, 0.1 або 0.3 пкмол/мкл  $^{12}\text{C}$ -малоніл-CoA а також малоніл- $^{13}\text{C}_3$ -CoA (0.4 пкмол/мкл). Кожний внутрішній контроль якості аналізу містив 85 % водного екстракту тканини із залишеною порцією, введеною внутрішнім стандартом (0.4 пкмол/мкл) та  $^{12}\text{C}$ -малоніл-CoA. Внутрішні
- 10 контролю аналізу вводили в кожний перебіг; вони полягали в аналізі одного голодного та одного годованого поєднаного зразка чотирьохголового м'язу та/або одного голодного та одного годованого поєднаного зразка печінки. Усі такі контролі були з малоніл- $^{13}\text{C}_3$ -CoA (0.4 пкмол/мкл).

Усі публікації, охоплюючи але без обмеження, видані патенти, заявки на патент, та статті в журналах, цитовані в цій заявці, повністю охоплено тут посиланням.

- Хоча винахід описано вище з посиланнями на розкриті втілення, спеціаліст у рівні техніки легко оцінить, що конкретні детально описані експерименти є тільки ілюстраціями винаходу.
- 15 Слід розуміти, що можна робити різні модифікації без відхилення за межі винаходу. Відповідно, винахід обмежено тільки наступною формулою винаходу.



## ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Пфайзер Інк.  
 Гріффіт Девід Ендрю  
 Дау Роберт Лі  
 Едмондс Девід Джеймс  
 Саутерс Джеймс Альфред Дж.

<120> ЗАМІЩЕНІ ІНГІБІТОРИ АЦЕТИЛ-СОА КАРБОКСИЛАЗИ

<130> PC71802A

<150> US 61/478,240  
 <151> 2011-04-22

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1  
 <211> 2356  
 <212> PRT  
 <213> Гомо саниєнс

<400> 1

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp Asp Glu Pro Ser  
 1 5 10 15

Pro Leu Ala Gln Pro Leu Glu Leu Asn Gln His Ser Arg Phe Ile Ile  
 20 25 30

Gly Ser Val Ser Glu Asp Asn Ser Glu Asp Glu Ile Ser Asn Leu Val  
 35 40 45

Lys Leu Asp Leu Leu Glu Lys Glu Gly Ser Leu Ser Pro Ala Ser Val  
 50 55 60

Gly Ser Asp Thr Leu Ser Asp Leu Gly Ile Ser Ser Leu Gln Asp Gly  
 65 70 75 80

Leu Ala Leu His Ile Arg Ser Ser Met Ser Gly Leu His Leu Val Lys  
 85 90 95

Gln Gly Arg Asp Arg Lys Lys Ile Asp Ser Gln Arg Asp Phe Thr Val  
 100 105 110

Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly Asn Lys Val Ile  
 115 120 125

Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala Val Lys Cys Met  
 130 135 140

Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ser Tyr Glu Met Phe Arg Asn Glu Arg Ala  
 145 150 155 160

Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ala Asn Ala  
 165 170 175

Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val Pro Gly Gly Pro  
 180 185 190  
 Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Leu Asp Ile Ala Lys  
 195 200 205  
 Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly His Ala Ser Glu  
 210 215 220  
 Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Leu Lys Asn Gly Ile Ala Phe Met  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Pro Ser Gln Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp Lys Ile Ala Ser  
 245 250 255  
 Ser Ile Val Ala Gln Thr Ala Gly Ile Pro Thr Leu Pro Trp Ser Gly  
 260 265 270  
 Ser Gly Leu Arg Val Asp Trp Gln Glu Asn Asp Phe Ser Lys Arg Ile  
 275 280 285  
 Leu Asn Val Pro Gln Glu Leu Tyr Glu Lys Gly Tyr Val Lys Asp Val  
 290 295 300  
 Asp Asp Gly Leu Gln Ala Ala Glu Glu Val Gly Tyr Pro Val Met Ile  
 305 310 315 320  
 Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Gly Lys Gly Ile Arg Lys Val Asn Asn  
 325 330 335  
 Ala Asp Asp Phe Pro Asn Leu Phe Arg Gln Val Gln Ala Glu Val Pro  
 340 345 350  
 Gly Ser Pro Ile Phe Val Met Arg Leu Ala Lys Gln Ser Arg His Leu  
 355 360 365  
 Glu Val Gln Ile Leu Ala Asp Gln Tyr Gly Asn Ala Ile Ser Leu Phe  
 370 375 380  
 Gly Arg Asp Cys Ser Val Gln Arg Arg His Gln Lys Ile Ile Glu Glu  
 385 390 395 400  
 Ala Pro Ala Thr Ile Ala Thr Pro Ala Val Phe Glu His Met Glu Gln  
 405 410 415  
 Cys Ala Val Lys Leu Ala Lys Met Val Gly Tyr Val Ser Ala Gly Thr  
 420 425 430  
 Val Glu Tyr Leu Tyr Ser Gln Asp Gly Ser Phe Tyr Phe Leu Glu Leu  
 435 440 445

Asn Pro Arg Leu Gln Val Glu His Pro Cys Thr Glu Met Val Ala Asp  
 450 455 460  
 Val Asn Leu Pro Ala Ala Gln Leu Gln Ile Ala Met Gly Ile Pro Leu  
 465 470 475 480  
 Tyr Arg Ile Lys Asp Ile Arg Met Met Tyr Gly Val Ser Pro Trp Gly  
 485 490 495  
 Asp Ser Pro Ile Asp Phe Glu Asp Ser Ala His Val Pro Cys Pro Arg  
 500 505 510  
 Gly His Val Ile Ala Ala Arg Ile Thr Ser Glu Asn Pro Asp Glu Gly  
 515 520 525  
 Phe Lys Pro Ser Ser Gly Thr Val Gln Glu Leu Asn Phe Arg Ser Asn  
 530 535 540  
 Lys Asn Val Trp Gly Tyr Phe Ser Val Ala Ala Ala Gly Gly Leu His  
 545 550 555 560  
 Glu Phe Ala Asp Ser Gln Phe Gly His Cys Phe Ser Trp Gly Glu Asn  
 565 570 575  
 Arg Glu Glu Ala Ile Ser Asn Met Val Val Ala Leu Lys Glu Leu Ser  
 580 585 590  
 Ile Arg Gly Asp Phe Arg Thr Thr Val Glu Tyr Leu Ile Lys Leu Leu  
 595 600 605  
 Glu Thr Glu Ser Phe Gln Met Asn Arg Ile Asp Thr Gly Trp Leu Asp  
 610 615 620  
 Arg Leu Ile Ala Glu Lys Val Gln Ala Glu Arg Pro Asp Thr Met Leu  
 625 630 635 640  
 Gly Val Val Cys Gly Ala Leu His Val Ala Asp Val Ser Leu Arg Asn  
 645 650 655  
 Ser Val Ser Asn Phe Leu His Ser Leu Glu Arg Gly Gln Val Leu Pro  
 660 665 670  
 Ala His Thr Leu Leu Asn Thr Val Asp Val Glu Leu Ile Tyr Glu Gly  
 675 680 685  
 Val Lys Tyr Val Leu Lys Val Thr Arg Gln Ser Pro Asn Ser Tyr Val  
 690 695 700  
 Val Ile Met Asn Gly Ser Cys Val Glu Val Asp Val His Arg Leu Ser  
 705 710 715 720

Asp Gly Gly Leu Leu<sub>725</sub> Leu Ser Tyr Asp Gly<sub>730</sub> Ser Ser Tyr Thr Thr<sub>735</sub> Tyr  
 Met Lys Glu Glu<sub>740</sub> Val Asp Arg Tyr Arg<sub>745</sub> Ile Thr Ile Gly Asn<sub>750</sub> Lys Thr  
 Cys Val Phe<sub>755</sub> Glu Lys Glu Asn Asp<sub>760</sub> Pro Ser Val Met Arg<sub>765</sub> Ser Pro Ser  
 Ala Gly<sub>770</sub> Lys Leu Ile Gln Tyr<sub>775</sub> Ile Val Glu Asp Gly<sub>780</sub> Gly His Val Phe  
 Ala Gly Gln Cys Tyr Ala<sub>790</sub> Glu Ile Glu Val Met<sub>795</sub> Lys Met Val Met Thr<sub>800</sub>  
 Leu Thr Ala Val Glu<sub>805</sub> Ser Gly Cys Ile His<sub>810</sub> Tyr Val Lys Arg Pro Gly<sub>815</sub>  
 Ala Ala Leu Asp<sub>820</sub> Pro Gly Cys Val Leu<sub>825</sub> Ala Lys Met Gln Leu<sub>830</sub> Asp Asn  
 Pro Ser Lys<sub>835</sub> Val Gln Gln Ala Glu<sub>840</sub> Leu His Thr Gly Ser<sub>845</sub> Leu Pro Arg  
 Ile Gln<sub>850</sub> Ser Thr Ala Leu Arg<sub>855</sub> Gly Glu Lys Leu His<sub>860</sub> Arg Val Phe His  
 Tyr Val<sub>865</sub> Leu Asp Asn Leu<sub>870</sub> Val Asn Val Met Asn<sub>875</sub> Gly Tyr Cys Leu Pro<sub>880</sub>  
 Asp Pro Phe Phe Ser<sub>885</sub> Ser Lys Val Lys Asp<sub>890</sub> Trp Val Glu Arg Leu Met<sub>895</sub>  
 Lys Thr Leu Arg<sub>900</sub> Asp Pro Ser Leu Pro<sub>905</sub> Leu Leu Glu Leu Gln<sub>910</sub> Asp Ile  
 Met Thr Ser<sub>915</sub> Val Ser Gly Arg Ile<sub>920</sub> Pro Pro Asn Val Glu<sub>925</sub> Lys Ser Ile  
 Lys Lys<sub>930</sub> Glu Met Ala Gln Tyr<sub>935</sub> Ala Ser Asn Ile Thr<sub>940</sub> Ser Val Leu Cys  
 Gln Phe Pro Ser Gln Gln<sub>950</sub> Ile Ala Asn Ile Leu<sub>955</sub> Asp Ser His Ala Ala<sub>960</sub>  
 Thr Leu Asn Arg Lys<sub>965</sub> Ser Glu Arg Glu Val<sub>970</sub> Phe Phe Met Asn Thr<sub>975</sub> Gln  
 Ser Ile Val Gln<sub>980</sub> Leu Val Gln Arg Tyr<sub>985</sub> Arg Ser Gly Ile Arg<sub>990</sub> Gly His

|     |      |     |     |     |     |      |      |     |     |     |      |      |     |     |   |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|---|
| Met | Lys  | Ala | Val | Val | Met | Asp  | Leu  | Leu | Arg | Gln | Tyr  | Leu  | Arg | Val | G |
|     |      | 995 |     |     |     |      | 1000 |     |     |     |      | 1005 |     |     |   |
| Thr | Gln  | Phe | Gln | Asn | Gly | His  | Tyr  | Asp | Lys | Cys | Val  | Phe  | Ala | Leu |   |
|     | 1010 |     |     |     |     | 1015 |      |     |     |     | 1020 |      |     |     |   |
| Arg | Glu  | Glu | Asn | Lys | Ser | Asp  | Met  | Asn | Thr | Val | Leu  | Asn  | Tyr | Ile |   |
|     | 1025 |     |     |     |     | 1030 |      |     |     |     | 1035 |      |     |     |   |
| Phe | Ser  | His | Ala | Gln | Val | Thr  | Lys  | Lys | Asn | Leu | Leu  | Val  | Thr | Met |   |
|     | 1040 |     |     |     |     | 1045 |      |     |     |     | 1050 |      |     |     |   |
| Leu | Ile  | Asp | Gln | Leu | Cys | Gly  | Arg  | Asp | Pro | Thr | Leu  | Thr  | Asp | Glu |   |
|     | 1055 |     |     |     |     | 1060 |      |     |     |     | 1065 |      |     |     |   |
| Leu | Leu  | Asn | Ile | Leu | Thr | Glu  | Leu  | Thr | Gln | Leu | Ser  | Lys  | Thr | Thr |   |
|     | 1070 |     |     |     |     | 1075 |      |     |     |     | 1080 |      |     |     |   |
| Asn | Ala  | Lys | Val | Ala | Leu | Arg  | Ala  | Arg | Gln | Val | Leu  | Ile  | Ala | Ser |   |
|     | 1085 |     |     |     |     | 1090 |      |     |     |     | 1095 |      |     |     |   |
| His | Leu  | Pro | Ser | Tyr | Glu | Leu  | Arg  | His | Asn | Gln | Val  | Glu  | Ser | Ile |   |
|     | 1100 |     |     |     |     | 1105 |      |     |     |     | 1110 |      |     |     |   |
| Phe | Leu  | Ser | Ala | Ile | Asp | Met  | Tyr  | Gly | His | Gln | Phe  | Cys  | Ile | Glu |   |
|     | 1115 |     |     |     |     | 1120 |      |     |     |     | 1125 |      |     |     |   |
| Asn | Leu  | Gln | Lys | Leu | Ile | Leu  | Ser  | Glu | Thr | Ser | Ile  | Phe  | Asp | Val |   |
|     | 1130 |     |     |     |     | 1135 |      |     |     |     | 1140 |      |     |     |   |
| Leu | Pro  | Asn | Phe | Phe | Tyr | His  | Ser  | Asn | Gln | Val | Val  | Arg  | Met | Ala |   |
|     | 1145 |     |     |     |     | 1150 |      |     |     |     | 1155 |      |     |     |   |
| Ala | Leu  | Glu | Val | Tyr | Val | Arg  | Arg  | Ala | Tyr | Ile | Ala  | Tyr  | Glu | Leu |   |
|     | 1160 |     |     |     |     | 1165 |      |     |     |     | 1170 |      |     |     |   |
| Asn | Ser  | Val | Gln | His | Arg | Gln  | Leu  | Lys | Asp | Asn | Thr  | Cys  | Val | Val |   |
|     | 1175 |     |     |     |     | 1180 |      |     |     |     | 1185 |      |     |     |   |
| Glu | Phe  | Gln | Phe | Met | Leu | Pro  | Thr  | Ser | His | Pro | Asn  | Arg  | Gly | Asn |   |
|     | 1190 |     |     |     |     | 1195 |      |     |     |     | 1200 |      |     |     |   |
| Ile | Pro  | Thr | Leu | Asn | Arg | Met  | Ser  | Phe | Ser | Ser | Asn  | Leu  | Asn | His |   |
|     | 1205 |     |     |     |     | 1210 |      |     |     |     | 1215 |      |     |     |   |
| Tyr | Gly  | Met | Thr | His | Val | Ala  | Ser  | Val | Ser | Asp | Val  | Leu  | Leu | Asp |   |
|     | 1220 |     |     |     |     | 1225 |      |     |     |     | 1230 |      |     |     |   |
| Asn | Ser  | Phe | Thr | Pro | Pro | Cys  | Gln  | Arg | Met | Gly | Gly  | Met  | Val | Ser |   |
|     | 1235 |     |     |     |     | 1240 |      |     |     |     | 1245 |      |     |     |   |

|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Phe | Arg  | Thr | Phe | Glu | Asp | Phe  | Val | Arg | Ile | Phe | Asp  | Glu | Val | Met |
|     | 1250 |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
| Gly | Cys  | Phe | Ser | Asp | Ser | Pro  | Pro | Gln | Ser | Pro | Thr  | Phe | Pro | Glu |
|     | 1265 |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |
| Ala | Gly  | His | Thr | Ser | Leu | Tyr  | Asp | Glu | Asp | Lys | Val  | Pro | Arg | Asp |
|     | 1280 |     |     |     |     | 1285 |     |     |     |     | 1290 |     |     |     |
| Glu | Pro  | Ile | His | Ile | Leu | Asn  | Val | Ala | Ile | Lys | Thr  | Asp | Cys | Asp |
|     | 1295 |     |     |     |     | 1300 |     |     |     |     | 1305 |     |     |     |
| Ile | Glu  | Asp | Asp | Arg | Leu | Ala  | Ala | Met | Phe | Arg | Glu  | Phe | Thr | Gln |
|     | 1310 |     |     |     |     | 1315 |     |     |     |     | 1320 |     |     |     |
| Gln | Asn  | Lys | Ala | Thr | Leu | Val  | Asp | His | Gly | Ile | Arg  | Arg | Leu | Thr |
|     | 1325 |     |     |     |     | 1330 |     |     |     |     | 1335 |     |     |     |
| Phe | Leu  | Val | Ala | Gln | Lys | Asp  | Phe | Arg | Lys | Gln | Val  | Asn | Tyr | Glu |
|     | 1340 |     |     |     |     | 1345 |     |     |     |     | 1350 |     |     |     |
| Val | Asp  | Arg | Arg | Phe | His | Arg  | Glu | Phe | Pro | Lys | Phe  | Phe | Thr | Phe |
|     | 1355 |     |     |     |     | 1360 |     |     |     |     | 1365 |     |     |     |
| Arg | Ala  | Arg | Asp | Lys | Phe | Glu  | Glu | Asp | Arg | Ile | Tyr  | Arg | His | Leu |
|     | 1370 |     |     |     |     | 1375 |     |     |     |     | 1380 |     |     |     |
| Glu | Pro  | Ala | Leu | Ala | Phe | Gln  | Leu | Glu | Leu | Asn | Arg  | Met | Arg | Asn |
|     | 1385 |     |     |     |     | 1390 |     |     |     |     | 1395 |     |     |     |
| Phe | Asp  | Leu | Thr | Ala | Ile | Pro  | Cys | Ala | Asn | His | Lys  | Met | His | Leu |
|     | 1400 |     |     |     |     | 1405 |     |     |     |     | 1410 |     |     |     |
| Tyr | Leu  | Gly | Ala | Ala | Lys | Val  | Glu | Val | Gly | Thr | Glu  | Val | Thr | Asp |
|     | 1415 |     |     |     |     | 1420 |     |     |     |     | 1425 |     |     |     |
| Tyr | Arg  | Phe | Phe | Val | Arg | Ala  | Ile | Ile | Arg | His | Ser  | Asp | Leu | Val |
|     | 1430 |     |     |     |     | 1435 |     |     |     |     | 1440 |     |     |     |
| Thr | Lys  | Glu | Ala | Ser | Phe | Glu  | Tyr | Leu | Gln | Asn | Glu  | Gly | Glu | Arg |
|     | 1445 |     |     |     |     | 1450 |     |     |     |     | 1455 |     |     |     |
| Leu | Leu  | Leu | Glu | Ala | Met | Asp  | Glu | Leu | Glu | Val | Ala  | Phe | Asn | Asn |
|     | 1460 |     |     |     |     | 1465 |     |     |     |     | 1470 |     |     |     |
| Thr | Asn  | Val | Arg | Thr | Asp | Cys  | Asn | His | Ile | Phe | Leu  | Asn | Phe | Val |
|     | 1475 |     |     |     |     | 1480 |     |     |     |     | 1485 |     |     |     |
| Pro | Thr  | Val | Ile | Met | Asp | Pro  | Ser | Lys | Ile | Glu | Glu  | Ser | Val | Arg |
|     | 1490 |     |     |     |     | 1495 |     |     |     |     | 1500 |     |     |     |

|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Ser | Met  | Val | Met | Arg | Tyr | Gly  | Ser | Arg | Leu | Trp | Lys  | Leu | Arg | Val |
|     | 1505 |     |     |     |     | 1510 |     |     |     |     | 1515 |     |     |     |
| Leu | Gln  | Ala | Glu | Leu | Lys | Ile  | Asn | Ile | Arg | Leu | Thr  | Pro | Thr | Gly |
|     | 1520 |     |     |     |     | 1525 |     |     |     |     | 1530 |     |     |     |
| Lys | Ala  | Ile | Pro | Ile | Arg | Leu  | Phe | Leu | Thr | Asn | Glu  | Ser | Gly | Tyr |
|     | 1535 |     |     |     |     | 1540 |     |     |     |     | 1545 |     |     |     |
| Tyr | Leu  | Asp | Ile | Ser | Leu | Tyr  | Lys | Glu | Val | Thr | Asp  | Ser | Arg | Thr |
|     | 1550 |     |     |     |     | 1555 |     |     |     |     | 1560 |     |     |     |
| Ala | Gln  | Ile | Met | Phe | Gln | Ala  | Tyr | Gly | Asp | Lys | Gln  | Gly | Pro | Leu |
|     | 1565 |     |     |     |     | 1570 |     |     |     |     | 1575 |     |     |     |
| His | Gly  | Met | Leu | Ile | Asn | Thr  | Pro | Tyr | Val | Thr | Lys  | Asp | Leu | Leu |
|     | 1580 |     |     |     |     | 1585 |     |     |     |     | 1590 |     |     |     |
| Gln | Ser  | Lys | Arg | Phe | Gln | Ala  | Gln | Ser | Leu | Gly | Thr  | Thr | Tyr | Ile |
|     | 1595 |     |     |     |     | 1600 |     |     |     |     | 1605 |     |     |     |
| Tyr | Asp  | Ile | Pro | Glu | Met | Phe  | Arg | Gln | Ser | Leu | Ile  | Lys | Leu | Trp |
|     | 1610 |     |     |     |     | 1615 |     |     |     |     | 1620 |     |     |     |
| Glu | Ser  | Met | Ser | Thr | Gln | Ala  | Phe | Leu | Pro | Ser | Pro  | Pro | Leu | Pro |
|     | 1625 |     |     |     |     | 1630 |     |     |     |     | 1635 |     |     |     |
| Ser | Asp  | Met | Leu | Thr | Tyr | Thr  | Glu | Leu | Val | Leu | Asp  | Asp | Gln | Gly |
|     | 1640 |     |     |     |     | 1645 |     |     |     |     | 1650 |     |     |     |
| Gln | Leu  | Val | His | Met | Asn | Arg  | Leu | Pro | Gly | Gly | Asn  | Glu | Ile | Gly |
|     | 1655 |     |     |     |     | 1660 |     |     |     |     | 1665 |     |     |     |
| Met | Val  | Ala | Trp | Lys | Met | Thr  | Phe | Lys | Ser | Pro | Glu  | Tyr | Pro | Glu |
|     | 1670 |     |     |     |     | 1675 |     |     |     |     | 1680 |     |     |     |
| Gly | Arg  | Asp | Ile | Ile | Val | Ile  | Gly | Asn | Asp | Ile | Thr  | Tyr | Arg | Ile |
|     | 1685 |     |     |     |     | 1690 |     |     |     |     | 1695 |     |     |     |
| Gly | Ser  | Phe | Gly | Pro | Gln | Glu  | Asp | Leu | Leu | Phe | Leu  | Arg | Ala | Ser |
|     | 1700 |     |     |     |     | 1705 |     |     |     |     | 1710 |     |     |     |
| Glu | Leu  | Ala | Arg | Ala | Glu | Gly  | Ile | Pro | Arg | Ile | Tyr  | Val | Ser | Ala |
|     | 1715 |     |     |     |     | 1720 |     |     |     |     | 1725 |     |     |     |
| Asn | Ser  | Gly | Ala | Arg | Ile | Gly  | Leu | Ala | Glu | Glu | Ile  | Arg | His | Met |
|     | 1730 |     |     |     |     | 1735 |     |     |     |     | 1740 |     |     |     |
| Phe | His  | Val | Ala | Trp | Val | Asp  | Pro | Glu | Asp | Pro | Tyr  | Lys | Gly | Tyr |
|     | 1745 |     |     |     |     | 1750 |     |     |     |     | 1755 |     |     |     |

|                 |                 |             |                 |                 |             |             |
|-----------------|-----------------|-------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|
| Arg Tyr<br>1760 | Leu Tyr         | Leu Thr     | Pro<br>1765     | Gln Asp Tyr Lys | Arg<br>1770 | Val Ser Ala |
| Leu Asn<br>1775 | Ser Val His Cys | Glu<br>1780 | His Val Glu Asp | Glu<br>1785     | Gly Glu Ser |             |
| Arg Tyr<br>1790 | Lys Ile Thr Asp | Ile<br>1795 | Ile Gly Lys Glu | Glu<br>1800     | Gly Ile Gly |             |
| Pro Glu<br>1805 | Asn Leu Arg Gly | Ser<br>1810 | Gly Met Ile Ala | Gly<br>1815     | Glu Ser Ser |             |
| Leu Ala<br>1820 | Tyr Asn Glu Ile | Ile<br>1825 | Thr Ile Ser Leu | Val<br>1830     | Thr Cys Arg |             |
| Ala Ile<br>1835 | Gly Ile Gly Ala | Tyr<br>1840 | Leu Val Arg Leu | Gly<br>1845     | Gln Arg Thr |             |
| Ile Gln<br>1850 | Val Glu Asn Ser | His<br>1855 | Leu Ile Leu Thr | Gly<br>1860     | Ala Gly Ala |             |
| Leu Asn<br>1865 | Lys Val Leu Gly | Arg<br>1870 | Glu Val Tyr Thr | Ser<br>1875     | Asn Asn Gln |             |
| Leu Gly<br>1880 | Gly Ile Gln Ile | Met<br>1885 | His Asn Asn Gly | Val<br>1890     | Thr His Cys |             |
| Thr Val<br>1895 | Cys Asp Asp Phe | Glu<br>1900 | Gly Val Phe Thr | Val<br>1905     | Leu His Trp |             |
| Leu Ser<br>1910 | Tyr Met Pro Lys | Ser<br>1915 | Val His Ser Ser | Val<br>1920     | Pro Leu Leu |             |
| Asn Ser<br>1925 | Lys Asp Pro Ile | Asp<br>1930 | Arg Ile Ile Glu | Phe<br>1935     | Val Pro Thr |             |
| Lys Thr<br>1940 | Pro Tyr Asp Pro | Arg<br>1945 | Trp Met Leu Ala | Gly<br>1950     | Arg Pro His |             |
| Pro Thr<br>1955 | Gln Lys Gly Gln | Trp<br>1960 | Leu Ser Gly Phe | Phe<br>1965     | Asp Tyr Gly |             |
| Ser Phe<br>1970 | Ser Glu Ile Met | Gln<br>1975 | Pro Trp Ala Gln | Thr<br>1980     | Val Val Val |             |
| Gly Arg<br>1985 | Ala Arg Leu Gly | Gly<br>1990 | Ile Pro Val Gly | Val<br>1995     | Val Ala Val |             |
| Glu Thr<br>2000 | Arg Thr Val Glu | Leu<br>2005 | Ser Ile Pro Ala | Asp<br>2010     | Pro Ala Asn |             |



|             |     |     |     |     |     |             |     |     |     |     |             |     |     |     |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|
| Leu<br>2015 | Asp | Ser | Glu | Ala | Lys | Ile<br>2020 | Ile | Gln | Gln | Ala | Gly<br>2025 | Gln | Val | Trp |
| Phe<br>2030 | Pro | Asp | Ser | Ala | Phe | Lys<br>2035 | Thr | Tyr | Gln | Ala | Ile<br>2040 | Lys | Asp | Phe |
| Asn<br>2045 | Arg | Glu | Gly | Leu | Pro | Leu<br>2050 | Met | Val | Phe | Ala | Asn<br>2055 | Trp | Arg | Gly |
| Phe<br>2060 | Ser | Gly | Gly | Met | Lys | Asp<br>2065 | Met | Tyr | Asp | Gln | Val<br>2070 | Leu | Lys | Phe |
| Gly<br>2075 | Ala | Tyr | Ile | Val | Asp | Gly<br>2080 | Leu | Arg | Glu | Cys | Cys<br>2085 | Gln | Pro | Val |
| Leu<br>2090 | Val | Tyr | Ile | Pro | Pro | Gln<br>2095 | Ala | Glu | Leu | Arg | Gly<br>2100 | Gly | Ser | Trp |
| Val<br>2105 | Val | Ile | Asp | Ser | Ser | Ile<br>2110 | Asn | Pro | Arg | His | Met<br>2115 | Glu | Met | Tyr |
| Ala<br>2120 | Asp | Arg | Glu | Ser | Arg | Gly<br>2125 | Ser | Val | Leu | Glu | Pro<br>2130 | Glu | Gly | Thr |
| Val<br>2135 | Glu | Ile | Lys | Phe | Arg | Arg<br>2140 | Lys | Asp | Leu | Val | Lys<br>2145 | Thr | Met | Arg |
| Arg<br>2150 | Val | Asp | Pro | Val | Tyr | Ile<br>2155 | His | Leu | Ala | Glu | Arg<br>2160 | Leu | Gly | Thr |
| Pro<br>2165 | Glu | Leu | Ser | Thr | Ala | Glu<br>2170 | Arg | Lys | Glu | Leu | Glu<br>2175 | Asn | Lys | Leu |
| Lys<br>2180 | Glu | Arg | Glu | Glu | Phe | Leu<br>2185 | Ile | Pro | Ile | Tyr | His<br>2190 | Gln | Val | Ala |
| Val<br>2195 | Gln | Phe | Ala | Asp | Leu | His<br>2200 | Asp | Thr | Pro | Gly | Arg<br>2205 | Met | Gln | Glu |
| Lys<br>2210 | Gly | Val | Ile | Ser | Asp | Ile<br>2215 | Leu | Asp | Trp | Lys | Thr<br>2220 | Ser | Arg | Thr |
| Phe<br>2225 | Phe | Tyr | Trp | Arg | Leu | Arg<br>2230 | Arg | Leu | Leu | Leu | Glu<br>2235 | Asp | Leu | Val |
| Lys<br>2240 | Lys | Lys | Ile | His | Asn | Ala<br>2245 | Asn | Pro | Glu | Leu | Thr<br>2250 | Asp | Gly | Gln |
| Ile<br>2255 | Gln | Ala | Met | Leu | Arg | Arg<br>2260 | Trp | Phe | Val | Glu | Val<br>2265 | Glu | Gly | Thr |

Val Lys Ala Tyr Val Trp Asp Asn Asn Lys Asp Leu Ala Glu Trp  
2270 2275 2280

Leu Glu Lys Gln Leu Thr Glu Glu Asp Gly Val His Ser Val Ile  
2285 2290 2295

Glu Glu Asn Ile Lys Cys Ile Ser Arg Asp Tyr Val Leu Lys Gln  
2300 2305 2310

Ile Arg Ser Leu Val Gln Ala Asn Pro Glu Val Ala Met Asp Ser  
2315 2320 2325

Ile Ile His Met Thr Gln His Ile Ser Pro Thr Gln Arg Ala Glu  
2330 2335 2340

Val Ile Arg Ile Leu Ser Thr Met Asp Ser Pro Ser Thr  
2345 2350 2355

<210> 2  
<211> 2458  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Val Leu Leu Leu Cys Leu Ser Cys Leu Ile Phe Ser Cys Leu Thr  
1 5 10 15

Phe Ser Trp Leu Lys Ile Trp Gly Lys Met Thr Asp Ser Lys Pro Ile  
20 25 30

Thr Lys Ser Lys Ser Glu Ala Asn Leu Ile Pro Ser Gln Glu Pro Phe  
35 40 45

Pro Ala Ser Asp Asn Ser Gly Glu Thr Pro Gln Arg Asn Gly Glu Gly  
50 55 60

His Thr Leu Pro Lys Thr Pro Ser Gln Ala Glu Pro Ala Ser His Lys  
65 70 75 80

Gly Pro Lys Asp Ala Gly Arg Arg Arg Asn Ser Leu Pro Pro Ser His  
85 90 95

Gln Lys Pro Pro Arg Asn Pro Leu Ser Ser Ser Asp Ala Ala Pro Ser  
100 105 110

Pro Glu Leu Gln Ala Asn Gly Thr Gly Thr Gln Gly Leu Glu Ala Thr  
115 120 125

Asp Thr Asn Gly Leu Ser Ser Ser Ala Arg Pro Gln Gly Gln Gln Ala  
130 135 140

Gly Ser Pro Ser Lys Glu Asp Lys Lys Gln Ala Asn Ile Lys Arg Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Met Thr Asn Phe Ile Leu Gly Ser Phe Asp Asp Tyr Ser Ser Asp  
 165 170 175  
 Glu Asp Ser Val Ala Gly Ser Ser Arg Glu Ser Thr Arg Lys Gly Ser  
 180 185 190  
 Arg Ala Ser Leu Gly Ala Leu Ser Leu Glu Ala Tyr Leu Thr Thr Gly  
 195 200 205  
 Glu Ala Glu Thr Arg Val Pro Thr Met Arg Pro Ser Met Ser Gly Leu  
 210 215 220  
 His Leu Val Lys Arg Gly Arg Glu His Lys Lys Leu Asp Leu His Arg  
 225 230 235 240  
 Asp Phe Thr Val Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly  
 245 250 255  
 Asp Arg Val Ile Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala  
 260 265 270  
 Val Lys Cys Met Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ala Tyr Glu Met Phe Arg  
 275 280 285  
 Asn Glu Arg Ala Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu  
 290 295 300  
 Lys Ala Asn Ala Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val  
 305 310 315 320  
 Pro Gly Gly Pro Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Val  
 325 330 335  
 Asp Ile Ala Lys Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly  
 340 345 350  
 His Ala Ser Glu Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Cys Lys Asn Gly  
 355 360 365  
 Val Ala Phe Leu Gly Pro Pro Ser Glu Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp  
 370 375 380  
 Lys Ile Ala Ser Thr Val Val Ala Gln Thr Leu Gln Val Pro Thr Leu  
 385 390 395 400  
 Pro Trp Ser Gly Ser Gly Leu Thr Val Glu Trp Thr Glu Asp Asp Leu  
 405 410 415

Gln Gln Gly Lys Arg Ile Ser Val Pro Glu Asp Val Tyr Asp Lys Gly  
420 425 430

Cys Val Lys Asp Val Asp Glu Gly Leu Glu Ala Ala Glu Arg Ile Gly  
435 440 445

Phe Pro Leu Met Ile Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Gly Lys Gly Ile  
450 455 460

Arg Lys Ala Glu Ser Ala Glu Asp Phe Pro Ile Leu Phe Arg Gln Val  
465 470 475 480

Gln Ser Glu Ile Pro Gly Ser Pro Ile Phe Leu Met Lys Leu Ala Gln  
485 490 495

His Ala Arg His Leu Glu Val Gln Ile Leu Ala Asp Gln Tyr Gly Asn  
500 505 510

Ala Val Ser Leu Phe Gly Arg Asp Cys Ser Ile Gln Arg Arg His Gln  
515 520 525

Lys Ile Val Glu Glu Ala Pro Ala Thr Ile Ala Pro Leu Ala Ile Phe  
530 535 540

Glu Phe Met Glu Gln Cys Ala Ile Arg Leu Ala Lys Thr Val Gly Tyr  
545 550 555 560

Val Ser Ala Gly Thr Val Glu Tyr Leu Tyr Ser Gln Asp Gly Ser Phe  
565 570 575

His Phe Leu Glu Leu Asn Pro Arg Leu Gln Val Glu His Pro Cys Thr  
580 585 590

Glu Met Ile Ala Asp Val Asn Leu Pro Ala Ala Gln Leu Gln Ile Ala  
595 600 605

Met Gly Val Pro Leu His Arg Leu Lys Asp Ile Arg Leu Leu Tyr Gly  
610 615 620

Glu Ser Pro Trp Gly Val Thr Pro Ile Ser Phe Glu Thr Pro Ser Asn  
625 630 635 640

Pro Pro Leu Ala Arg Gly His Val Ile Ala Ala Arg Ile Thr Ser Glu  
645 650 655

Asn Pro Asp Glu Gly Phe Lys Pro Ser Ser Gly Thr Val Gln Glu Leu  
660 665 670

Asn Phe Arg Ser Ser Lys Asn Val Trp Gly Tyr Phe Ser Val Ala Ala  
675 680 685

Thr Gly Gly Leu His Glu Phe Ala Asp Ser Gln Phe Gly His Cys Phe  
 690 695 700  
 Ser Trp Gly Glu Asn Arg Glu Glu Ala Ile Ser Asn Met Val Val Ala  
 705 710 715 720  
 Leu Lys Glu Leu Ser Ile Arg Gly Asp Phe Arg Thr Thr Val Glu Tyr  
 725 730 735  
 Leu Ile Asn Leu Leu Glu Thr Glu Ser Phe Gln Asn Asn Asp Ile Asp  
 740 745 750  
 Thr Gly Trp Leu Asp Tyr Leu Ile Ala Glu Lys Val Gln Ala Glu Lys  
 755 760 765  
 Pro Asp Ile Met Leu Gly Val Val Cys Gly Ala Leu Asn Val Ala Asp  
 770 775 780  
 Ala Met Phe Arg Thr Cys Met Thr Asp Phe Leu His Ser Leu Glu Arg  
 785 790 795 800  
 Gly Gln Val Leu Pro Ala Asp Ser Leu Leu Asn Leu Val Asp Val Glu  
 805 810 815  
 Leu Ile Tyr Gly Gly Val Lys Tyr Ile Leu Lys Val Ala Arg Gln Ser  
 820 825 830  
 Leu Thr Met Phe Val Leu Ile Met Asn Gly Cys His Ile Glu Ile Asp  
 835 840 845  
 Ala His Arg Leu Asn Asp Gly Gly Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Gly Asn  
 850 855 860  
 Ser Tyr Thr Thr Tyr Met Lys Glu Glu Val Asp Ser Tyr Arg Ile Thr  
 865 870 875 880  
 Ile Gly Asn Lys Thr Cys Val Phe Glu Lys Glu Asn Asp Pro Thr Val  
 885 890 895  
 Leu Arg Ser Pro Ser Ala Gly Lys Leu Thr Gln Tyr Thr Val Glu Asp  
 900 905 910  
 Gly Gly His Val Glu Ala Gly Ser Ser Tyr Ala Glu Met Glu Val Met  
 915 920 925  
 Lys Met Ile Met Thr Leu Asn Val Gln Glu Arg Gly Arg Val Lys Tyr  
 930 935 940  
 Ile Lys Arg Pro Gly Ala Val Leu Glu Ala Gly Cys Val Val Ala Arg  
 945 950 955 960

Leu Glu Leu Asp Asp Pro Ser Lys Val His Pro Ala Glu Pro Phe Thr  
 965 970 975  
 Gly Glu Leu Pro Ala Gln Gln Thr Leu Pro Ile Leu Gly Glu Lys Leu  
 980 985 990  
 His Gln Val Phe His Ser Val Leu Glu Asn Leu Thr Asn Val Met Ser  
 995 1000 1005  
 Gly Phe Cys Leu Pro Glu Pro Val Phe Ser Ile Lys Leu Lys Glu  
 1010 1015 1020  
 Trp Val Gln Lys Leu Met Met Thr Leu Arg His Pro Ser Leu Pro  
 1025 1030 1035  
 Leu Leu Glu Leu Gln Glu Ile Met Thr Ser Val Ala Gly Arg Ile  
 1040 1045 1050  
 Pro Ala Pro Val Glu Lys Ser Val Arg Arg Val Met Ala Gln Tyr  
 1055 1060 1065  
 Ala Ser Asn Ile Thr Ser Val Leu Cys Gln Phe Pro Ser Gln Gln  
 1070 1075 1080  
 Ile Ala Thr Ile Leu Asp Cys His Ala Ala Thr Leu Gln Arg Lys  
 1085 1090 1095  
 Ala Asp Arg Glu Val Phe Phe Ile Asn Thr Gln Ser Ile Val Gln  
 1100 1105 1110  
 Leu Val Gln Arg Tyr Arg Ser Gly Ile Arg Gly Tyr Met Lys Thr  
 1115 1120 1125  
 Val Val Leu Asp Leu Leu Arg Arg Tyr Leu Arg Val Glu His His  
 1130 1135 1140  
 Phe Gln Gln Ala His Tyr Asp Lys Cys Val Ile Asn Leu Arg Glu  
 1145 1150 1155  
 Gln Phe Lys Pro Asp Met Ser Gln Val Leu Asp Cys Ile Phe Ser  
 1160 1165 1170  
 His Ala Gln Val Ala Lys Lys Asn Gln Leu Val Ile Met Leu Ile  
 1175 1180 1185  
 Asp Glu Leu Cys Gly Pro Asp Pro Ser Leu Ser Asp Glu Leu Ile  
 1190 1195 1200  
 Ser Ile Leu Asn Glu Leu Thr Gln Leu Ser Lys Ser Glu His Cys  
 1205 1210 1215

|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Lys | Val  | Ala | Leu | Arg | Ala | Arg  | Gln | Ile | Leu | Ile | Ala  | Ser | His | Leu |
|     | 1220 |     |     |     |     | 1225 |     |     |     |     | 1230 |     |     |     |
| Pro | Ser  | Tyr | Glu | Leu | Arg | His  | Asn | Gln | Val | Glu | Ser  | Ile | Phe | Leu |
|     | 1235 |     |     |     |     | 1240 |     |     |     |     | 1245 |     |     |     |
| Ser | Ala  | Ile | Asp | Met | Tyr | Gly  | His | Gln | Phe | Cys | Pro  | Glu | Asn | Leu |
|     | 1250 |     |     |     |     | 1255 |     |     |     |     | 1260 |     |     |     |
| Lys | Lys  | Leu | Ile | Leu | Ser | Glu  | Thr | Thr | Ile | Phe | Asp  | Val | Leu | Pro |
|     | 1265 |     |     |     |     | 1270 |     |     |     |     | 1275 |     |     |     |
| Thr | Phe  | Phe | Tyr | His | Ala | Asn  | Lys | Val | Val | Cys | Met  | Ala | Ser | Leu |
|     | 1280 |     |     |     |     | 1285 |     |     |     |     | 1290 |     |     |     |
| Glu | Val  | Tyr | Val | Arg | Arg | Gly  | Tyr | Ile | Ala | Tyr | Glu  | Leu | Asn | Ser |
|     | 1295 |     |     |     |     | 1300 |     |     |     |     | 1305 |     |     |     |
| Leu | Gln  | His | Arg | Gln | Leu | Pro  | Asp | Gly | Thr | Cys | Val  | Val | Glu | Phe |
|     | 1310 |     |     |     |     | 1315 |     |     |     |     | 1320 |     |     |     |
| Gln | Phe  | Met | Leu | Pro | Ser | Ser  | His | Pro | Asn | Arg | Met  | Thr | Val | Pro |
|     | 1325 |     |     |     |     | 1330 |     |     |     |     | 1335 |     |     |     |
| Ile | Ser  | Ile | Thr | Asn | Pro | Asp  | Leu | Leu | Arg | His | Ser  | Thr | Glu | Leu |
|     | 1340 |     |     |     |     | 1345 |     |     |     |     | 1350 |     |     |     |
| Phe | Met  | Asp | Ser | Gly | Phe | Ser  | Pro | Leu | Cys | Gln | Arg  | Met | Gly | Ala |
|     | 1355 |     |     |     |     | 1360 |     |     |     |     | 1365 |     |     |     |
| Met | Val  | Ala | Phe | Arg | Arg | Phe  | Glu | Asp | Phe | Thr | Arg  | Asn | Phe | Asp |
|     | 1370 |     |     |     |     | 1375 |     |     |     |     | 1380 |     |     |     |
| Glu | Val  | Ile | Ser | Cys | Phe | Ala  | Asn | Val | Pro | Lys | Asp  | Thr | Pro | Leu |
|     | 1385 |     |     |     |     | 1390 |     |     |     |     | 1395 |     |     |     |
| Phe | Ser  | Glu | Ala | Arg | Thr | Ser  | Leu | Tyr | Ser | Glu | Asp  | Asp | Cys | Lys |
|     | 1400 |     |     |     |     | 1405 |     |     |     |     | 1410 |     |     |     |
| Ser | Leu  | Arg | Glu | Glu | Pro | Ile  | His | Ile | Leu | Asn | Val  | Ser | Ile | Gln |
|     | 1415 |     |     |     |     | 1420 |     |     |     |     | 1425 |     |     |     |
| Cys | Ala  | Asp | His | Leu | Glu | Asp  | Glu | Ala | Leu | Val | Pro  | Ile | Leu | Arg |
|     | 1430 |     |     |     |     | 1435 |     |     |     |     | 1440 |     |     |     |
| Thr | Phe  | Val | Gln | Ser | Lys | Lys  | Asn | Ile | Leu | Val | Asp  | Tyr | Gly | Leu |
|     | 1445 |     |     |     |     | 1450 |     |     |     |     | 1455 |     |     |     |
| Arg | Arg  | Ile | Thr | Phe | Leu | Ile  | Ala | Gln | Glu | Lys | Glu  | Phe | Pro | Lys |
|     | 1460 |     |     |     |     | 1465 |     |     |     |     | 1470 |     |     |     |

|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Phe | Phe  | Thr | Phe | Arg | Ala | Arg  | Asp | Glu | Phe | Ala | Glu  | Asp | Arg | Ile |
|     | 1475 |     |     |     |     | 1480 |     |     |     |     | 1485 |     |     |     |
| Tyr | Arg  | His | Leu | Glu | Pro | Ala  | Leu | Ala | Phe | Gln | Leu  | Glu | Leu | Asn |
|     | 1490 |     |     |     |     | 1495 |     |     |     |     | 1500 |     |     |     |
| Arg | Met  | Arg | Asn | Phe | Asp | Leu  | Thr | Ala | Val | Pro | Cys  | Ala | Asn | His |
|     | 1505 |     |     |     |     | 1510 |     |     |     |     | 1515 |     |     |     |
| Lys | Met  | His | Leu | Tyr | Leu | Gly  | Ala | Ala | Lys | Val | Lys  | Glu | Gly | Val |
|     | 1520 |     |     |     |     | 1525 |     |     |     |     | 1530 |     |     |     |
| Glu | Val  | Thr | Asp | His | Arg | Phe  | Phe | Ile | Arg | Ala | Ile  | Ile | Arg | His |
|     | 1535 |     |     |     |     | 1540 |     |     |     |     | 1545 |     |     |     |
| Ser | Asp  | Leu | Ile | Thr | Lys | Glu  | Ala | Ser | Phe | Glu | Tyr  | Leu | Gln | Asn |
|     | 1550 |     |     |     |     | 1555 |     |     |     |     | 1560 |     |     |     |
| Glu | Gly  | Glu | Arg | Leu | Leu | Leu  | Glu | Ala | Met | Asp | Glu  | Leu | Glu | Val |
|     | 1565 |     |     |     |     | 1570 |     |     |     |     | 1575 |     |     |     |
| Ala | Phe  | Asn | Asn | Thr | Ser | Val  | Arg | Thr | Asp | Cys | Asn  | His | Ile | Phe |
|     | 1580 |     |     |     |     | 1585 |     |     |     |     | 1590 |     |     |     |
| Leu | Asn  | Phe | Val | Pro | Thr | Val  | Ile | Met | Asp | Pro | Phe  | Lys | Ile | Glu |
|     | 1595 |     |     |     |     | 1600 |     |     |     |     | 1605 |     |     |     |
| Glu | Ser  | Val | Arg | Tyr | Met | Val  | Met | Arg | Tyr | Gly | Ser  | Arg | Leu | Trp |
|     | 1610 |     |     |     |     | 1615 |     |     |     |     | 1620 |     |     |     |
| Lys | Leu  | Arg | Val | Leu | Gln | Ala  | Glu | Val | Lys | Ile | Asn  | Ile | Arg | Gln |
|     | 1625 |     |     |     |     | 1630 |     |     |     |     | 1635 |     |     |     |
| Thr | Thr  | Thr | Gly | Ser | Ala | Val  | Pro | Ile | Arg | Leu | Phe  | Ile | Thr | Asn |
|     | 1640 |     |     |     |     | 1645 |     |     |     |     | 1650 |     |     |     |
| Glu | Ser  | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Asp  | Ile | Ser | Leu | Tyr | Lys  | Glu | Val | Thr |
|     | 1655 |     |     |     |     | 1660 |     |     |     |     | 1665 |     |     |     |
| Asp | Ser  | Arg | Ser | Gly | Asn | Ile  | Met | Phe | His | Ser | Phe  | Gly | Asn | Lys |
|     | 1670 |     |     |     |     | 1675 |     |     |     |     | 1680 |     |     |     |
| Gln | Gly  | Pro | Gln | His | Gly | Met  | Leu | Ile | Asn | Thr | Pro  | Tyr | Val | Thr |
|     | 1685 |     |     |     |     | 1690 |     |     |     |     | 1695 |     |     |     |
| Lys | Asp  | Leu | Leu | Gln | Ala | Lys  | Arg | Phe | Gln | Ala | Gln  | Thr | Leu | Gly |
|     | 1700 |     |     |     |     | 1705 |     |     |     |     | 1710 |     |     |     |
| Thr | Thr  | Tyr | Ile | Tyr | Asp | Phe  | Pro | Glu | Met | Phe | Arg  | Gln | Ala | Leu |
|     | 1715 |     |     |     |     | 1720 |     |     |     |     | 1725 |     |     |     |



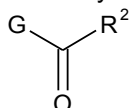
|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Phe | Lys  | Leu | Trp | Gly | Ser | Pro  | Asp | Lys | Tyr | Pro | Lys  | Asp | Ile | Leu |
|     | 1730 |     |     |     |     | 1735 |     |     |     |     | 1740 |     |     |     |
| Thr | Tyr  | Thr | Glu | Leu | Val | Leu  | Asp | Ser | Gln | Gly | Gln  | Leu | Val | Glu |
|     | 1745 |     |     |     |     | 1750 |     |     |     |     | 1755 |     |     |     |
| Met | Asn  | Arg | Leu | Pro | Gly | Gly  | Asn | Glu | Val | Gly | Met  | Val | Ala | Phe |
|     | 1760 |     |     |     |     | 1765 |     |     |     |     | 1770 |     |     |     |
| Lys | Met  | Arg | Phe | Lys | Thr | Gln  | Glu | Tyr | Pro | Glu | Gly  | Arg | Asp | Val |
|     | 1775 |     |     |     |     | 1780 |     |     |     |     | 1785 |     |     |     |
| Ile | Val  | Ile | Gly | Asn | Asp | Ile  | Thr | Phe | Arg | Ile | Gly  | Ser | Phe | Gly |
|     | 1790 |     |     |     |     | 1795 |     |     |     |     | 1800 |     |     |     |
| Pro | Gly  | Glu | Asp | Leu | Leu | Tyr  | Leu | Arg | Ala | Ser | Glu  | Met | Ala | Arg |
|     | 1805 |     |     |     |     | 1810 |     |     |     |     | 1815 |     |     |     |
| Ala | Glu  | Gly | Ile | Pro | Lys | Ile  | Tyr | Val | Ala | Ala | Asn  | Ser | Gly | Ala |
|     | 1820 |     |     |     |     | 1825 |     |     |     |     | 1830 |     |     |     |
| Arg | Ile  | Gly | Met | Ala | Glu | Glu  | Ile | Lys | His | Met | Phe  | His | Val | Ala |
|     | 1835 |     |     |     |     | 1840 |     |     |     |     | 1845 |     |     |     |
| Trp | Val  | Asp | Pro | Glu | Asp | Pro  | His | Lys | Gly | Phe | Lys  | Tyr | Leu | Tyr |
|     | 1850 |     |     |     |     | 1855 |     |     |     |     | 1860 |     |     |     |
| Leu | Thr  | Pro | Gln | Asp | Tyr | Thr  | Arg | Ile | Ser | Ser | Leu  | Asn | Ser | Val |
|     | 1865 |     |     |     |     | 1870 |     |     |     |     | 1875 |     |     |     |
| His | Cys  | Lys | His | Ile | Glu | Glu  | Gly | Gly | Glu | Ser | Arg  | Tyr | Met | Ile |
|     | 1880 |     |     |     |     | 1885 |     |     |     |     | 1890 |     |     |     |
| Thr | Asp  | Ile | Ile | Gly | Lys | Asp  | Asp | Gly | Leu | Gly | Val  | Glu | Asn | Leu |
|     | 1895 |     |     |     |     | 1900 |     |     |     |     | 1905 |     |     |     |
| Arg | Gly  | Ser | Gly | Met | Ile | Ala  | Gly | Glu | Ser | Ser | Leu  | Ala | Tyr | Glu |
|     | 1910 |     |     |     |     | 1915 |     |     |     |     | 1920 |     |     |     |
| Glu | Ile  | Val | Thr | Ile | Ser | Leu  | Val | Thr | Cys | Arg | Ala  | Ile | Gly | Ile |
|     | 1925 |     |     |     |     | 1930 |     |     |     |     | 1935 |     |     |     |
| Gly | Ala  | Tyr | Leu | Val | Arg | Leu  | Gly | Gln | Arg | Val | Ile  | Gln | Val | Glu |
|     | 1940 |     |     |     |     | 1945 |     |     |     |     | 1950 |     |     |     |
| Asn | Ser  | His | Ile | Ile | Leu | Thr  | Gly | Ala | Ser | Ala | Leu  | Asn | Lys | Val |
|     | 1955 |     |     |     |     | 1960 |     |     |     |     | 1965 |     |     |     |
| Leu | Gly  | Arg | Glu | Val | Tyr | Thr  | Ser | Asn | Asn | Gln | Leu  | Gly | Gly | Val |
|     | 1970 |     |     |     |     | 1975 |     |     |     |     | 1980 |     |     |     |

|             |     |     |     |     |     |             |     |     |     |     |             |     |     |     |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|
| Gln<br>1985 | Ile | Met | His | Tyr | Asn | Gly<br>1990 | Val | Ser | His | Ile | Thr<br>1995 | Val | Pro | Asp |
| Asp<br>2000 | Phe | Glu | Gly | Val | Tyr | Thr<br>2005 | Ile | Leu | Glu | Trp | Leu<br>2010 | Ser | Tyr | Met |
| Pro<br>2015 | Lys | Asp | Asn | His | Ser | Pro<br>2020 | Val | Pro | Ile | Ile | Thr<br>2025 | Pro | Thr | Asp |
| Pro<br>2030 | Ile | Asp | Arg | Glu | Ile | Glu<br>2035 | Phe | Leu | Pro | Ser | Arg<br>2040 | Ala | Pro | Tyr |
| Asp<br>2045 | Pro | Arg | Trp | Met | Leu | Ala<br>2050 | Gly | Arg | Pro | His | Pro<br>2055 | Thr | Leu | Lys |
| Gly<br>2060 | Thr | Trp | Gln | Ser | Gly | Phe<br>2065 | Phe | Asp | His | Gly | Ser<br>2070 | Phe | Lys | Glu |
| Ile<br>2075 | Met | Ala | Pro | Trp | Ala | Gln<br>2080 | Thr | Val | Val | Thr | Gly<br>2085 | Arg | Ala | Arg |
| Leu<br>2090 | Gly | Gly | Ile | Pro | Val | Gly<br>2095 | Val | Ile | Ala | Val | Glu<br>2100 | Thr | Arg | Thr |
| Val<br>2105 | Glu | Val | Ala | Val | Pro | Ala<br>2110 | Asp | Pro | Ala | Asn | Leu<br>2115 | Asp | Ser | Glu |
| Ala<br>2120 | Lys | Ile | Ile | Gln | Gln | Ala<br>2125 | Gly | Gln | Val | Trp | Phe<br>2130 | Pro | Asp | Ser |
| Ala<br>2135 | Tyr | Lys | Thr | Ala | Gln | Ala<br>2140 | Ile | Lys | Asp | Phe | Asn<br>2145 | Arg | Glu | Lys |
| Leu<br>2150 | Pro | Leu | Met | Ile | Phe | Ala<br>2155 | Asn | Trp | Arg | Gly | Phe<br>2160 | Ser | Gly | Gly |
| Met<br>2165 | Lys | Asp | Met | Tyr | Asp | Gln<br>2170 | Val | Leu | Lys | Phe | Gly<br>2175 | Ala | Tyr | Ile |
| Val<br>2180 | Asp | Gly | Leu | Arg | Gln | Tyr<br>2185 | Lys | Gln | Pro | Ile | Leu<br>2190 | Ile | Tyr | Ile |
| Pro<br>2195 | Pro | Tyr | Ala | Glu | Leu | Arg<br>2200 | Gly | Gly | Ser | Trp | Val<br>2205 | Val | Ile | Asp |
| Ala<br>2210 | Thr | Ile | Asn | Pro | Leu | Cys<br>2215 | Ile | Glu | Met | Tyr | Ala<br>2220 | Asp | Lys | Glu |
| Ser<br>2225 | Arg | Gly | Gly | Val | Leu | Glu<br>2230 | Pro | Glu | Gly | Thr | Val<br>2235 | Glu | Ile | Lys |

|     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| Phe | Arg  | Lys | Lys | Asp | Leu | Ile  | Lys | Ser | Met | Arg | Arg  | Ile | Asp | Pro |
|     | 2240 |     |     |     |     | 2245 |     |     |     |     | 2250 |     |     |     |
| Ala | Tyr  | Lys | Lys | Leu | Met | Glu  | Gln | Leu | Gly | Glu | Pro  | Asp | Leu | Ser |
|     | 2255 |     |     |     |     | 2260 |     |     |     |     | 2265 |     |     |     |
| Asp | Lys  | Asp | Arg | Lys | Asp | Leu  | Glu | Gly | Arg | Leu | Lys  | Ala | Arg | Glu |
|     | 2270 |     |     |     |     | 2275 |     |     |     |     | 2280 |     |     |     |
| Asp | Leu  | Leu | Leu | Pro | Ile | Tyr  | His | Gln | Val | Ala | Val  | Gln | Phe | Ala |
|     | 2285 |     |     |     |     | 2290 |     |     |     |     | 2295 |     |     |     |
| Asp | Phe  | His | Asp | Thr | Pro | Gly  | Arg | Met | Leu | Glu | Lys  | Gly | Val | Ile |
|     | 2300 |     |     |     |     | 2305 |     |     |     |     | 2310 |     |     |     |
| Ser | Asp  | Ile | Leu | Glu | Trp | Lys  | Thr | Ala | Arg | Thr | Phe  | Leu | Tyr | Trp |
|     | 2315 |     |     |     |     | 2320 |     |     |     |     | 2325 |     |     |     |
| Arg | Leu  | Arg | Arg | Leu | Leu | Leu  | Glu | Asp | Gln | Val | Lys  | Gln | Glu | Ile |
|     | 2330 |     |     |     |     | 2335 |     |     |     |     | 2340 |     |     |     |
| Leu | Gln  | Ala | Ser | Gly | Glu | Leu  | Ser | His | Val | His | Ile  | Gln | Ser | Met |
|     | 2345 |     |     |     |     | 2350 |     |     |     |     | 2355 |     |     |     |
| Leu | Arg  | Arg | Trp | Phe | Val | Glu  | Thr | Glu | Gly | Ala | Val  | Lys | Ala | Tyr |
|     | 2360 |     |     |     |     | 2365 |     |     |     |     | 2370 |     |     |     |
| Leu | Trp  | Asp | Asn | Asn | Gln | Val  | Val | Val | Gln | Trp | Leu  | Glu | Gln | His |
|     | 2375 |     |     |     |     | 2380 |     |     |     |     | 2385 |     |     |     |
| Trp | Gln  | Ala | Gly | Asp | Gly | Pro  | Arg | Ser | Thr | Ile | Arg  | Glu | Asn | Ile |
|     | 2390 |     |     |     |     | 2395 |     |     |     |     | 2400 |     |     |     |
| Thr | Tyr  | Leu | Lys | His | Asp | Ser  | Val | Leu | Lys | Thr | Ile  | Arg | Gly | Leu |
|     | 2405 |     |     |     |     | 2410 |     |     |     |     | 2415 |     |     |     |
| Val | Glu  | Glu | Asn | Pro | Glu | Val  | Ala | Val | Asp | Cys | Val  | Ile | Tyr | Leu |
|     | 2420 |     |     |     |     | 2425 |     |     |     |     | 2430 |     |     |     |
| Ser | Gln  | His | Ile | Ser | Pro | Ala  | Glu | Arg | Ala | Gln | Val  | Val | His | Leu |
|     | 2435 |     |     |     |     | 2440 |     |     |     |     | 2445 |     |     |     |
| Leu | Ser  | Thr | Met | Asp | Ser | Pro  | Ala | Ser | Thr |     |      |     |     |     |
|     | 2450 |     |     |     |     | 2455 |     |     |     |     |      |     |     |     |

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

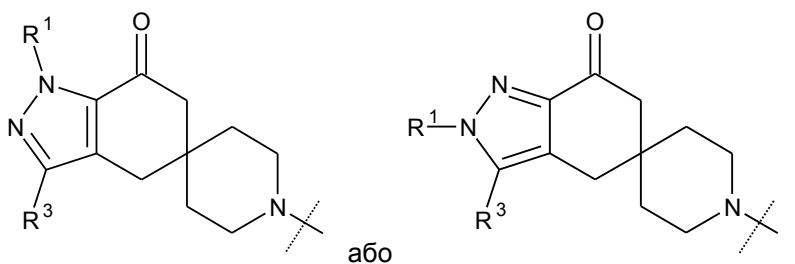
5 1. Сполука формули (I)



Формула (I)

або її фармацевтично прийнятна сіль; де

G є



$R^1$  -  $(C_1-C_6)$ алкіл або  $(C_3-C_7)$ циклоалкіл;

$R^2$  - індоліл, індоазоліл, піролопіридиніл, піразолопіридиніл, хінолініл або бензоімідазоліл, де  
5 кожна група  $R^2$  необов'язково заміщена одним-двома замісниками, незалежно вибраними з наступного: ціано,  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$ ,  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_1-C_3)$ алкоксил та галоген;

$R^3$  - гідроген або  $(C_1-C_3)$ алкіл;

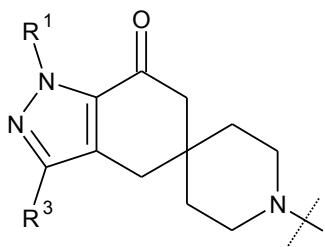
L - прямий зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$ алкілен;

X - прямий зв'язок, O або S;

$R^4$  і  $R^5$  кожний незалежно вибраний з групи: гідроген,  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_3-C_7)$ циклоалкіл або чотири-  
10 семичленний гетероциклі, де вказаний  $(C_1-C_3)$ алкіл,  $(C_3-C_7)$ циклоалкіл або чотири-  
семичленний гетероцикліл необов'язково заміщений одним-трьома флуоро або  $(C_1-C_3)$ алкоксил.

2. Сполука за п. 1, де

G -

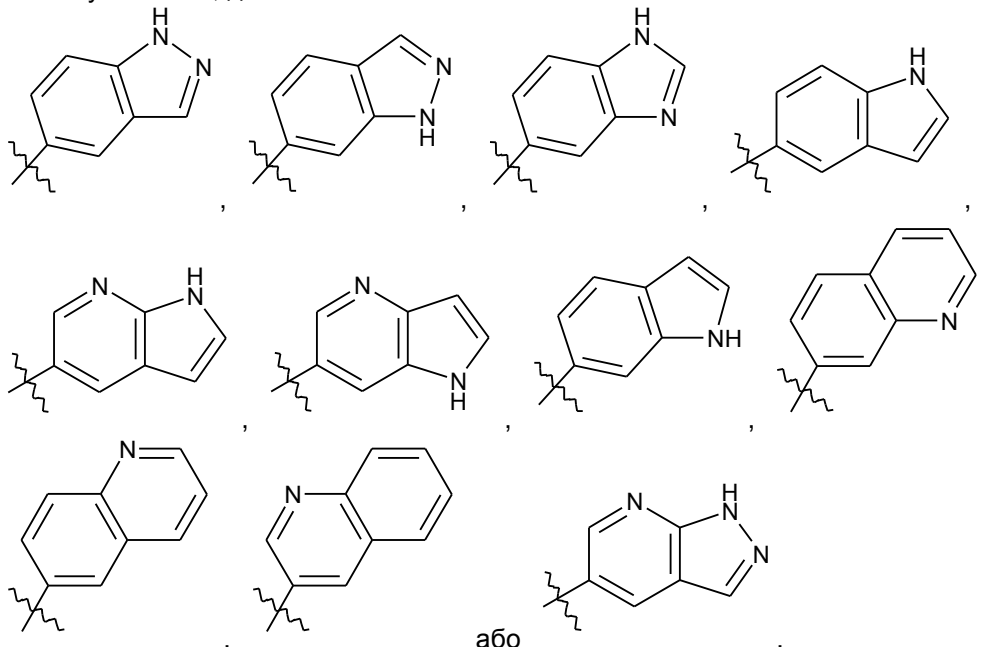


15

або її фармацевтично прийнятна сіль.

3. Сполука за п. 2, де  $R^3$  - гідроген; або її фармацевтично прийнятна сіль.

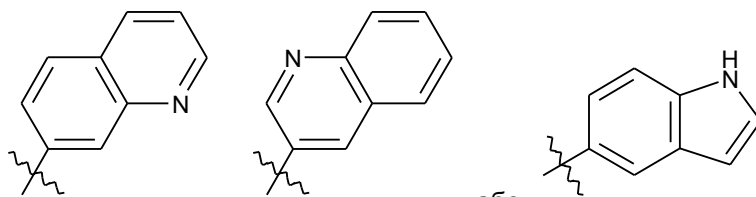
4. Сполука за п. 3, де  $R^2$  є



20

де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, який є наступним:  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$  або  
25  $(C_1-C_3)$ алкоксил;  $R^3$  - гідроген; L - прямий зв'язок або  $-X(C_1-C_3)$ алкілен; X - прямий зв'язок, O або S; та  $R^4$  і  $R^5$  кожний незалежно є наступним: гідроген або  $(C_1-C_3)$ алкіл; або її фармацевтично прийнятна сіль.

5. Сполука за п. 3, де  $R^2$  є

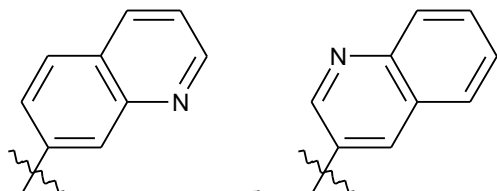


або

де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, як-то  $-L-C(O)NR^4R^5$ ,  $-L-NR^4R^5$  або  $(C_1-C_3)$ алкоксил;

L - прямий зв'язок; та  $R^4$  і  $R^5$  гідрогени; або її фармацевтично прийнятна сіль.

5 6. Сполука за п. 3, де  $R^2$  є



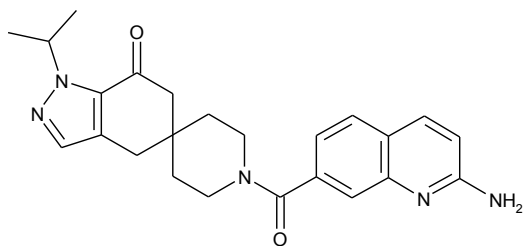
або

де кожна група  $R^2$  заміщена одним замісником, як-то  $-L-NR^4R^5$  або  $(C_1-C_3)$ алкоксил; L - прямий зв'язок; та  $R^4$  і  $R^5$  гідрогени; або її фармацевтично прийнятна сіль.

7. Сполука, вибрана із групи, яка складається з наступного:

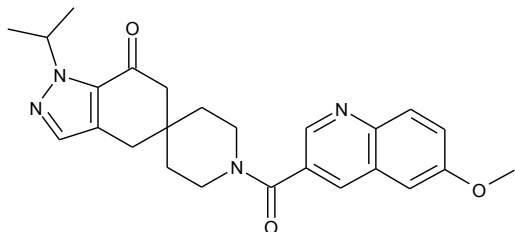
- 10 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-3-карбоксамід;  
 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 15 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[3,2-b]піридин-3-карбоксамід;  
 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-3-карбоксамід;  
 20 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-2-карбоксамід;  
 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-3-карбоксамід;  
 25 1'-[(2-аміно-1H-бензімідазол-5-іл)карбоніл]-1-ізопропіл-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он;  
 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-метил-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 N-етил-5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 30 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-N-(2,2,2-трифлуороетил)-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 6-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індол-2-карбоксамід;  
 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піразоло[3,4-b]піридин-3-карбоксамід;  
 35 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-2-карбоксамід;  
 1-ізопропіл-1'-[2-(метиламіно)-1H-бензімідазол-5-іл]карбоніл]-1,4-дигідроспіро[індазол-5,4'-піперидин]-7(6H)-он;  
 40 5-[(1-ізопропіл-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-бензімідазол-2-карбоксамід;  
 5-[(1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-індазол-3-карбоксамід;  
 5-[(1-трет-бутил-7-оксо-1,4,6,7-тетрагідро-1'H-спіро[індазол-5,4'-піперидин]-1'-іл)карбоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-3-карбоксамід;  
 45 або її фармацевтично прийнятна сіль.

8. Сполука структури



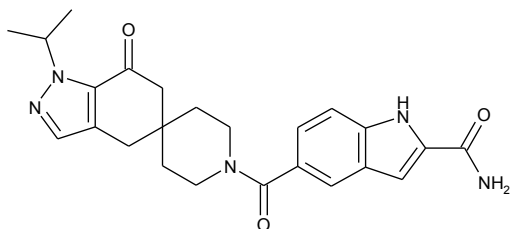
або її фармацевтично прийнятна сіль.

9. Сполука структури



5 або її фармацевтично прийнятна сіль.

10. Сполука структури



або її фармацевтично прийнятна сіль.

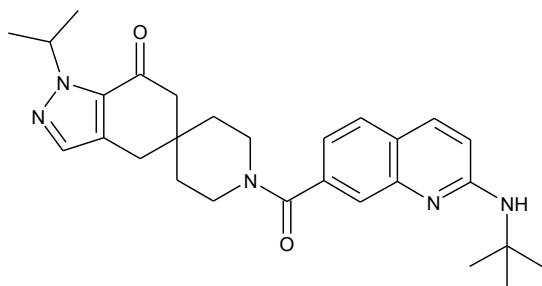
10 11. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким із пп. 1-9 або її фармацевтично прийнятну сіль та фармацевтично прийнятний наповнювач, розріджувач або носій.

12. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-9 у виготовленні медикаменту для лікування хвороби, стану або розладу, який модульовано інгібуванням ферментів ацетил-CoA карбоксилази.

15 13. Застосування за п. 12, де хворобою, станом або розладом є діабет 2 типу, споріднені з діабетом розлади, хвороба безалкогольного ожиріння печінки (NAFLD) або печінкова резистентність до інсуліну.

14. Застосування за п. 12, де хворобою, станом або розладом є діабет 2 типу.

15. Сполука структури



20

або її фармацевтично прийнятна сіль.

---

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601