

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) **BG**

(11) **106291 A**

7(51) C 07 D 209/44

A 61 K 31/4035

A 61 P 43/00

C 07 D 403/12

C 07 D 401/12

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 106291 A

(22) Заявено на 09.01.2002

(24) Начало на действие
на патента от:

Приоритетни данни

(31) 138543 (32) 10.06.99 (33) US

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 5 на 31.05.2002

(45) Отпечатано на

(46) Публикувано в бюлетин №
на

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):

WARNER-LAMBERT COMPANY
MORRIS PLAINS, NJ (US)

(72) Изобретател(и):

Corinne Elizabeth Augelli-Szafran, Ann Arbor, MI
Yingjie Lai, Edison, NJ
Annete Theresa Sakkab, Northville, MI
Lary Craswell Walker, Ann Arbor, MI (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:

Фани Владимирова Божинова,
1000 София, п.к. 728

(86) № и дата на PCT заявка:

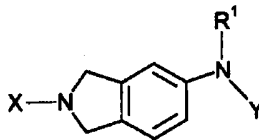
PCT/US00/15073, 31.05.2000

(87) № и дата на PCT публикация:

WO00/76969, 21.12.2000

(54) МЕТОД ЗА ИНХИБИРАНЕ НА НАТРУПВАНЕ ОТ АМИЛОИДЕН ПРОТЕИН И ЗА ИЗОБРАЗЯВАНЕ НА АМИЛОИДНИ ОТЛАГАНИЯ, ИЗПОЛЗВАЙКИ ПРОИЗВОДНИ НА ИЗОИНДОЛИН

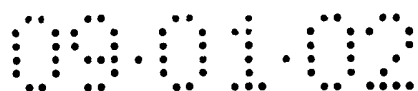
(57) Методът е приложим за лечение на болестта на Алцхаймер с помощта на ново съединение с формула



в която X е фенил или заместен фенил; Y е фенил, заместен фенил, пиридил или заместен пиридил. Изобретението се отнася също до метод за инхибиране на натрупвания от амилоидни протеини, при който се използва посоченото съединение, и до метод за изобразяване на амилоидни отлагания, при който се прилагат производни на изоиндол.

19 претенции

BG 106291 A



МЕТОД ЗА ИНХИБИРАНЕ НА НАТРУПВАНЕ ОТ АМИЛОИДЕН ПРОТЕИН И ЗА ИЗОБРАЗЯВАНЕ НА АМИЛОИДНИ ОТЛАГАНИЯ, ИЗПОЛЗУВАЙКИ ПРОИЗВОДНИ НА ИЗОИНДОЛИН

ОБЛАСТ НА ТЕХНИКАТА

Това изобретение се отнася до метод за инхибиране на натрупвания от амилоиден протеин, и метод за изобразяване на амилоидни отлагания. По-специално, това изобретение се отнася до метод за инхибиране на натрупване от амилоиден протеин с цел за лечение на болестта на Алцхаймер, като се използват производни на изоиндолин.

ПРЕДШЕСТВУВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

Амилоидозата е състояние, характеризиращо се с натрупването на различни неразтворими, фибриларни протеини в тъканите на пациента. Фибриларните протеини, които съдържат натрупвания, или отлагания се наричат амилоидни протеини. Докато по-специалните протеини, или пептиди, намерени в отлаганията варират, наличието на фибриларна морфология и голямото количество на β -слоеста вторична структура

е общо за много видове амилоиди. Едно амилоидно отлагане се образува от струпване на амилоидни протеини, последвано от по-нататъшни комбинации на струпвания и/или амилоидни протеини.

Наличието на амилоидни отлагания е било показано при различни заболявания, даже в неговите по-специални асоциирани протеини, такива като средиземноморска треска, синдрома на Muckle-Wells, идиопатична миелома, амилоидна полиневропатия, амилоидна кардиомиопатия, системна сенилна амилоидоза, амилоидна полиневропатия, наследствена церебрална хеморагия с амилоидоза, боластта на Алцхаймер, синдрома на Даун, Scrapie, болестта на Кройцфелд-Якоб, Kuru, Gerstmann-Straussler-Scheinker синдром, медуларен карцином на тироидната жлеза, изолиран техикардичен амилоид, β_2 -микроглобулинов амилоид при пациенти на диализа, миозитни клетъчни включвания, β_2 -амилоидни отлагания при заболяване с отпадане на мускулите, сърповидноклетъчна анемия, болест на Паркинсон, и аденом на Лангерхансовите острови при диабет тип II.

Болестта на Алцхаймер е дегенеративно разстройство на мозъка, характеризиращо се клинично с прогресивна загуба на паметта, на познавателната способност, на разсъдъка, на разума, и на емоционалната стабилност постепенно води до умствени разстройства и накрая смърт. Тъй като болестта на Алцхаймер и свързаните с нея дегенеративни разстройства на мозъка са главният медицински изход за популация с увеличаваща се възраст, необходими са нови лечения и методи за диагностициране на разстройствата.

Обикновено, неинвазивни методи за откриване и за количественото определяне на амилоидните отлагания у па-

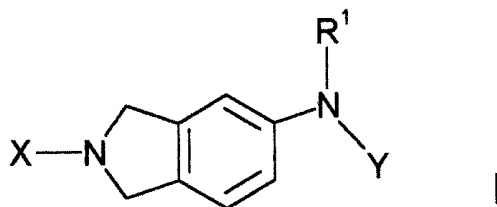
циентите са били много силно търсени. Понастоящем, откриването на амилоидните отлагания обхваща хистологични анализи на материали от биопсия, или материали от аутопсия. И двата метода имат основни недостатъци. Например, една аутопсия може да се използва само за поставяне на диагноза след настъпване на смъртта.

Директното изобразяване на амилоидните отлагания *in vivo* е трудно, тъй като отлаганията имат много еднакви физични свойства (например, плътност, и водно съдържание) с нормалните тъкани. Опитите да се изобразят амилоидните отлагания директно, като се използва изображение с магнитен резонанс (MRI) и компютърна томография (CAT) са разочаровали, и откриват амилоидни отлагания само при някои благоприятни условия. Освен това, усилията да се бележат амилоидните отлагания с антитела, серумен амилоиден P протеин, или други молекулни сонди предоставиха известна селективност за периферните тъкани, но предоставиха оскъдни изображения на вътрешните тъкани.

Така че, би било полезно да има не-инвазивна техника за изобразяване и за количествено определяне на амилоидни отлагания у пациенти. Също така, би било полезно да има съединения, които инхибират натрупването на амилоидни протеини, които образуват амилоидни отлагания.

ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Настоящото изобретение предоставя съединения имащи формулата I:



или техни фармацевтично приемливи соли,
където

X е фенил, или заместен фенил;

Y е фенил, заместен фенил, пиридил, или заместен пиридил.

където заместеният фенил и заместеният пиридил могат да имат от 1 до 4 заместители, всеки един от които независимо се избира от групата, състояща се от $-OC_1-C_{12}$ алкил, халоген, $-C_1-C_6$ алкил, фенил,

O O O O
|| || || ||
 $-CNR''$, $-CNH-S-R'$, $-S-R'$, $-CO_2H$, $-CO_2R^1$, $-NO_2$, $-CF_3$, $-CN$,

 || ||
 O O
 $-NR^1R^2$, $-(CH_2)_nCO_2H$, $-(CH_2)_nCO_2R^1$, $-SO_2NR^1R^2$, тетразол,
 $-(CH_2)_n$ -тетразол, декахидроизохинолин, имидазол, $-(CH_2)_n$
имидазол, $-CH = CH$ -тетразол, $-CH = CH$ -имидазол, или
фенил;

R^1 и R^2 независимо са водород, или $-C_1-C_6$ алкил;

всеки n независимо е от 0 до 5 включително;

R'' е водород, $-C_1-C_6$ алкил, или фенил; и

R' е водород, $-C_1-C_6$ алкил, $-CF_3$, или фенил.

В предпочитан вариант на съединенията с формула I, X е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, независимо избрани от групата, състояща се от $-\text{OC}_1\text{-C}_6$ алкил, халоген, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, $-\text{CF}_3$, или фенил.

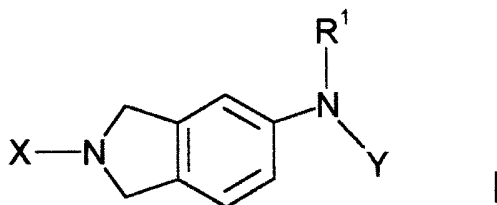
В предпочитан вариант на съединенията с формула I, Y е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, независимо избрани от групата, състояща се от $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OC}_1\text{-C}_{12}$ алкил, $-\text{CN}$, тетразол, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, $-\text{CF}_3$, имидазол, $-(\text{CH}_2)_n$ -тетразол, $-(\text{CH}_2)_n$ имидазол, $-\text{CH} = \text{CH}$ -тетразол, или $-\text{CH} = \text{CH}$ -имидазол.

В предпочитан вариант на съединенията с формула I, Y е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, един от които се избира от $-\text{CO}_2\text{H}$.

В още по-предпочитан вариант на съединенията с формула I, Y е заместен фенил, където заместителят е $-\text{CO}_2\text{H}$, който се намира на 2 позиция във фенолния пръстен.

В още по-предпочитан вариант на съединенията с формула I, където X е заместен фенил, заместеният фенил има два хлорни заместителя, намиращи се на 3 и 4 позиция във фенолния пръстен.

Също така настоящето изобретение предоставя съединения, имащи формулата I



или техни фармацевтично приемливи соли,

където

X е фенил, или заместен фенил,

0 9 0 1 0 2

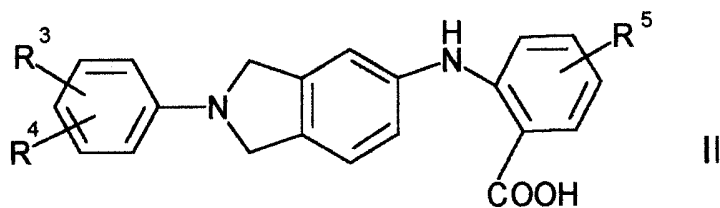
където когато X е заместен фенил, заместеният фенил има от 1 до 4 заместители, всеки един от които независимо се избира от групата, състояща се от $-OC_1-C_6$ алкил, халоген, $-C_1-C_6$ алкил, $-CF_3$, или фенил;

Y е фенил, заместен фенил, пиридил, или заместен пиридил;

където когато Y е заместен фенил, или заместен пиридил, заместеният фенил, или заместеният пиридил има от 1 до 4 заместители, независимо избран от групата, състояща се от $-CO_2H$, $-NO_2$, $-OC_1-C_{12}$ алкил, $-CN$, $-CF_3$, $-(CH_2)_nCO_2H$, $-SO_2NR^1R^2$, тетразол, $-(CH_2)_n$ -тетразол, декахидроизохинолин, фенил, имидазол, $-(CH_2)_n$ имидазол, $-CH = CH$ -тетразол, или $-CH = CH$ -имидазол; а

R^1 и R^2 независимо са водород, или $-C_1-C_6$ алкил; и всеки n независимо е от 0 до 5 включително.

Особено предпочитани съединения, имащи формулата II



и техни фармацевтично приемливи соли,

където

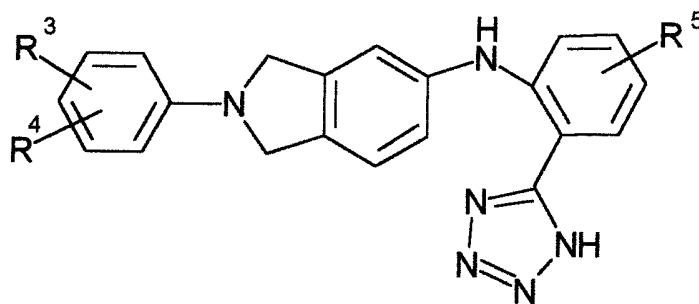
R^3 е халогено;

R^4 е водород, или халогено; а

R^5 е водород, халогено, C_1-C_6 алкил, $-O-C_1-C_6$ алкил, $-CF_3$, $-NO_2$, или $-NR^1R^2$.

Друга предпочитана група съединения съгласно изобретението има формула III

09.01.02



III

и техни фармацевтично приемливи соли,

където

R^3 е халогено;

R^4 е водород, или халогено; а

R^5 е водород, халогено, C_1-C_6 алкил, $-O-C_1-C_6$ алкил, $-CF_3$, $-NO_2$, или $-NR^1R^2$.

Изобретението предоставя също така съединенията:

2-[2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

4-метокси-5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-метокси-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

08.01.02

2-[2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-нитро-2-[2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензонитрил;

2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-(2-тетразол-1-ил-фенил)-амин;

{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фенил}-оцетна киселина;

3-{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фенил}-пропионова киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-6-нитробензоена киселина;

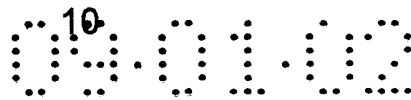
2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-нитробензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-3-нитробензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-метансулфонил-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-сульфамоил-бензоена киселина;

- 4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-изофталова киселина;
- 3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фталова киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-трифлуорметил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-имидазол-1-ил-бензоена киселина;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-
(2-тетразол-1-илметил-фенил)-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-
[2-(2-тетразол-1-ил-етил)-фенил]-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-
[2-(2-тетразол-1-ил-винил)-фенил]-амин;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-3-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-нитро-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-3,5-динитро-бензоена киселина;
- 3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-2-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-метокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-пропокси-бензоена киселина;
- 4-бутокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-бензоена киселина;



2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-пентилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-хексилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-хептилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-октилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-нонилокси-бензоена киселина;

4-децилокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-изопропокси-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-(2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-5-нитро-бензоена киселина; или

2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-нитро-бензоена киселина.

Също така изобретението предоставя фармацевтичен състав, съдържащ съединение с формула I, заедно с фармацевтично приемлив носител, разрежител, или инертен пълнител.

Също така изобретението предоставя метада за лечение на болестта на Алцхаймер, като методът се състои в приложение върху пациент, страдащ от болестта на Алцхаймер на

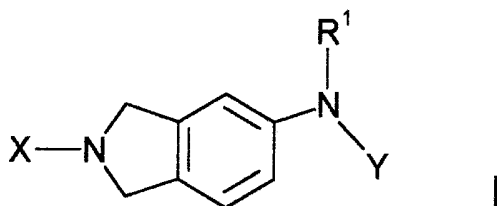
09.01.00¹⁴

терапевтично ефективно количество от съединение с формула I.

Също така изобретението предоставя метод за инхибиране на натрупване от амилоидни протеини, които образуват отлагания, като методът се състои в приложение върху пациент, който се нуждае от инхибиране на натрупването от амилоидни протеини, на количество от съединение с формула I, инхибиращо натрупването от амилоидни протеини.

Също така изобретението предоставя метод за изобразяване на амилоидни отлагания, като методът се състои от етапите на:

- a. Вкарване в пациента на откриваемо количество от белязано съединение с формула I

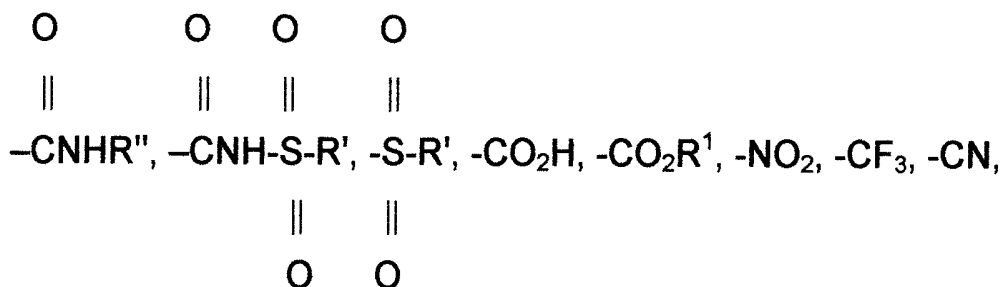


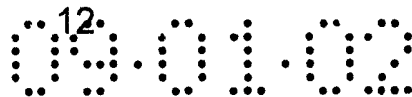
или негови фармацевтично приемливи соли,
където

X е фенил, или заместен фенил;

Y е фенил, заместен фенил;

където заместеният фенил може да има от 1 до 5 заместители, всеки един от които се избира независимо от групата, състояща се от $-OC_1-C_{12}$ алкил, халоген, $-C_1-C_6$ алкил, фенил,





$-\text{NR}^1\text{R}^1$, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{R}^1$, $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^1$, тетразол,
 $-(\text{CH}_2)_n$ -тетразол, имидазол, $-(\text{CH}_2)_n$ имидазол, $-\text{CH} = \text{CH}$ -
тетразол, или $-\text{CH} = \text{CH}$ - имидазол;

всеки R^1 независимо е водород, или $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил;

всеки n независимо е от 0 до 5 включително;

R'' е водород, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, или фенил; и

R' е водород, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, $-\text{CF}_3$, или фенил.

b. предоставя се достатъчно време на белязаното съединение, за да се свърже с амилоидните отлагания; и

c. откриване на белязаното съединение, свързано с амилоидните отлагания.

В предпочитан вариант на метода, пациентът страда от, или е под съмнение, че страда от болестта на Алцхаймер.

В предпочитан вариант на метода, белязаното съединение е съединение, белязано с радиоактивен изотоп.

В предпочитан вариант на метода, белязаното съединение се открива, като се използва MRI.

ПОДРОБНО ОПИСАНИЕ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Терминът "алкил" означава въглеводород с права, или с разклонена верига.

Представителните примери за алкилови групи са метилова, етилова, пропилова, изопропилова, изобутилова, бутилова, трет-бутилова, сек-бутилова, пентилова, и хексилова.

Предпочитаните алкилови групи са $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил.

Терминът "алкокси" означава алкилова група, прикрепена към кислороден атом.

Представителните примери за алкилови групи включват метиокси, етилокси, трет-бутокси, пропокси и изобутокси.

Терминът “халоген” включва хлор, флуор, бром, и йод.

Терминът “заместен” означава, че един, или повече водородни атоми в молекулата са били заместени с друг атом, или група от атоми. Например, заместителите включват халоген, -ОН, -CF₃, -NO₂, -NH₂, -NH(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)₂, C₁-C₆ алкил, -OC₁-C₆ алкил, -CN, -CF₃, -CO₂H, и -CO₂C₁-C₆ алкил.

Терминът “заместен фенил” означава фенилов пръстен, в който от 1 до 4 водородни атоми са били заместени независимо със заместител, за предпочитане избран от изброените по-горе. Примерите включват 3-хлорфенил, 2,6-дибромфенил, 4-нитрофенил, 3,4,5-триметоксифенил и 3-диетиламинофенил.

Знакът “-” означава ковалентна връзка.

Терминът “фармацевтично приемлива сол, естер, амид, и предшественици на лекарствени средства”, така, както се използва тук, се отнася до тези карбоксилатни соли, присъединителни соли на аминокиселини, естери, амиди, и предшественици на лекарствени средства на съединенията съгласно настоящето изобретение, които са, в обхвата на медицинския смисъл на думата, подходящи за използване при контакт с тъканите на пациентите, без прекалена токсичност, раздразнение, алергична реакция, и други подобни действия, съизмерими с разумното съотношение благодеяние/риск, и ефективни за използването, за което са предназначени, така както и формите на амфотерните йони, където това е възможно, на съединенията съгласно настоящето изобретение. Терминът “соли” се отнася до относително нетоксични, при-

съединителни соли на минерални и органични киселини на съединенията съгласно настоящето изобретение. Тези соли могат да се получат *in situ* по време на крайното изолиране и пречистване на съединенията, или посредством отделно взаимодействие на пречистеното съединение под формата на неговата свободна основа, с подходяща органична, или минерална киселина, и изолиране на така получената сол. Представителните соли включват хидробромидни, хидрохлоридни, сулфатни, бисулфатни, нитратни, ацетатни, оксалатни, валератни, олеатни, палмитатни, стеаратни, лауратни, боратни, бензоатни, лактатни, фосфатни, тозилатни, цитратни, малеатни, фумаратни, сукцинатни, тартаратни, нафтилатни, мезилатни, глюкохептонатни, лактобионатни, и лаурилсулфонатни соли, и други подобни. Те могат да включват катиони на базата на алкалните и алкалоземните метали, такива като натрий, литий, калий, калций, магнезий, и други подобни, така както и нетоксични амониеви, кватернерни амониеви и аминокатиони включително, но без да се ограничават от амоняк, тетраметиламоняк, метиламин, диметиламин, триметиламин, триетиламин, етиламин, и други подобни. (Виж, например, Berge S. M., et al., *Pharmaceutical Salts*, J. Pharm. Sci., 66:1 –19 (1977), което е включено тук за справка).

Примерите за фармацевтично приемливи, нетоксични естери на съединенията съгласно настоящето изобретение включват $-C_1-C_6$ алкилови естери, в които алкилната група е с права, или разклонена верига. Приемливите естери включват също така $-C_5-C_7$ циклоалкилови естери, така както и арилалкилови естери, такива като, но без да се ограничават от, бензилови естери. $-C_1-C_4$ алкиловите естери са предпочитани.

Естери на съединенията съгласно настоящето изобретение могат да се получат съгласно конвенционални методи.

Примерите за фармацевтично приемливи, нетоксични амиди на съединенията съгласно настоящето изобретение включват амидни производни на амоняка, първични $-C_1-C_6$ алкилови амини и вторични $-C_1-C_6$ диалкилови амини, в които алкилната група е с права, или разклонена верига. В случаите на вторични амини, аминът също така може да е под формата на 5-, или 6-членен хетероцикъл, съдържащ един азотен атом. Амидните производни на амоняка, първичните $-C_1-C_3$ алкил амини и вторичните $-C_1-C_2$ диалкил амини са предпочитани. Амиди на съединенията съгласно настоящето изобретение могат да се получат съгласно конвенционални методи.

Терминът "предшественик на лекарство" се отнася до съединения, които бързо се трансформират *in vivo*, като дават сродно съединение с горните формули, например, посредством хидролизиране в кръвта. Пълната дискусия е предоставена в T. Higuchi and V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A. C. S. Symposium Series, и в *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, като и двата са включени тук за справка.

Също така, съединенията съгласно настоящето изобретение могат да съществуват в несолватирана форма, така както и в солватирана форма, с фармацевтично приемливи разтворители, такива като вода, етанол и други подобни. Обикновено, солватираниите форми се разглеждат като еквивалентни на несолватираниите форми за целите на настоящето изобретение.

Съединенията съгласно настоящето изобретение могат да съществуват като различни стереоизомерни форми, в зависимост от наличието на асиметрични центрове в съединенията. Смята се, че всички стереоизомерни форми на съединенията, така както и техните смеси, включително рацемични смеси, са част от настоящето изобретение.

В първия етап на настоящия метод за изобразяване, белязано съединение с формула I се вкарва в тъкан, или у пациент в откриваемо количество. Съединението характерно е част от фармацевтичен състав, и се вкарва в тъканта, или у пациента чрез методи, които са добре познати на специалистите в областта на техниката.

В методите на настоящето изобретение, съединение може да се прилага или орално, или ректално, или парентерално (травенозно, мускулно, или подкожно), или интрацистернално, или интравагинално, или интраперитонеално, или в мехура, или локално (прахове, мазила, или капки), или спрейове за устната кухина, или за носа.

Съединенията, подходящи за парентерално инжектиране могат да съдържат физиологично приемливи стерилни водни, или неводни разтвори, дисперсии, суспензии, или емулсии, и стерилни прахове за повторно пресъздаване под формата на стерилни инжекционни разтвори, или дисперсии. Примерите за подходящи водни, или неводни носители, разредители, разтворители, или вехикулуми включват вода, етанол, полиоли (пропиленгликол, полиетиленгликол, глицерол, и други подобни), техни подходящи смеси, растителни масла (такива като маслиново масло), и инжектируеми органични естери, такива като етил олеат. Подходяща флуидност може да се поддържа, например, като се използват покрития, такива като лецитин,

посредством поддържането на необходимия размер на частичките в случай на дисперсии, и чрез използването на повърхностно активни вещества.

Тези състави могат също така да съдържат помощни средства, такива като консервиращи средства, емулгиращи средства, и диспергиращи средства. Предпазването от действието на микроорганизми може да се гарантира посредством различни противобактериални и противогъбични средства, например, парааминобензоена киселина, хлоробутанол, фенол, сирбинова киселина, и други подобни. Може, също така, да е желателно да се включат изотонични средства, например, захари, натриев хлорид, и други подобни. Продължителното абсорбиране на инжекционните фармацевтични форми може да се постигне посредством средства, забавящи абсорбирането, например, алуминиев моностеарат и желатин.

Твърдите лекарствени форми за еднократно дозиране за орално приложение включват капсули, таблетки, пилюли, прахове, и гранули. При такива твърди лекарствени форми за еднократно дозиране, активното съединение е смесено с най-малко един инертен пълнител (или носител), такъв като натриев цитрат, или дикалциев фосфат, или (а) пълнители, или уплътнители, като например, нишесте, лактоза, захароза, глюкоза, манитол, и силициева киселина; (b) свързващи средства, като например, карбоксиметилцелулоза, алгинати, желатин, поливинилпиролон, захароза, и акация; (c) овлажнители, като например, глицерол; (d) дезинтегриращи средства, като например, агар-агар, калциев карбонат, картофено нишесте, или нишесте от тапиока, алгинова киселина, някои сложни силикати и натриев карбонат; (e) забавящи разтварянето средства, като например, парафин; (f) ускоряващи абсорбцията

средства, като например, кватернерни амониеви съединения; (g) омокрящи средства, като например, цетилов алкохол и глицерол моностеарат; (h) абсорбенти, като например, каолин и бентонит; и (i) омазняващи средства, като например, талк, калциев стеарат, магнезиев стеарат, твърди полиетилен гликоли, натриев лаурил сулфат, или техни смеси. Когато се касае за капсули, таблетки и пилюли, лекарствените форми за еднократно дозиране могат също така да съдържат буферизиращи средства.

Твърди състави от подобен вид могат също така да се използват като пълнители в меки- и твърди-напълнени желатинови капсули, използвайки такива инертни пълнители като лактоза, или млечна захар, така както и високо мелекулни полиетиленгликоли, и други подобни.

Твърди лекарствените форми за еднократно дозиране, такива като таблетки, дражета, капсули, пилюли и гранули, могат да се получат с покрития, и обвивки, такива като интестинални покрития, и други добре познати в областта на техниката. Те могат да съдържат средства придаващи мътност, и могат също така да бъдат такива състави, които да отделят активното съединение, или съединения в определена част на интестиналния тракт по забавен начин. Примерите за внедрени състави, които могат да се използват, са полимерни съединения и восъци. Активните съединения могат също така да бъдат в микрокапсулирана форма, ако е подходящо, с един, или повече от горе-посочените инертни пълнители.

Течните лекарствените форми за еднократно дозиране включват фармацевтично приемливи емулсии, разтвори, суспензии, сиропи и еликсири. Допълнително към активните съе-

динения, течните лекарствените форми за еднократно дозиране могат да съдържат инертни разредители, които обикновено се използват в областта на техниката, такива като вода, или други разтворители, разтварящи средства, и емулгиращи средства, като например, етилов алкохол, изопропилов алкохол, етил карбонат, етил ацетат, бензилов алкохол, бензил бензоат, пропиленгликол, 1,3-бутиленгликол, диметилформамид, масла, по-специално, масло от семената на памук, масло от зърнени зародиши, маслиново масло, и сусамово масло, глицерол, тетраhydroфурфурил алкохол, полиетиленгликоли, и естери на мастни киселини със сорбитан, или смеси от тези вещества, и други подобни.

Освен такива инертни разредители, съставите могат също така да включват помощни средства, такива като омекрящи средства, емулгиращи и суспендиращи средства, подсладители, подобряващи вкуса средства, и ароматизиращи средства.

Суспензиите, освен активните съединения, могат да съдържат суспендиращи средства, като например, етоксилрани изостеарилови алкохоли, полиоксиетилан сорбитол и сорбитанови естери, микрокристална целулоза, алуминиев метаксид, бентонит, агар-агар и трагакант, или смеси от тези вещества, и други подобни.

Съставите за ректално приложение за предпочитане са свещички, които могат да се получат чрез смесване на съединения съгласно настоящето изобретение с подходящи недразнещи инертни пълнители, или носители, такива като кокосово масло, полиетиленгликол, или восък за свещички, които са твърди при обикновена температура, но са течни при телесна температура, и поради това, се стопяват в ректума,

или във вагиналната кухина, и отделят активната съставна част.

Лекарствените форми за еднократно локално приложение на съединенията съгласно настоящето изобретение включват мехлеми, прахове, спрейове, и инхалационни продукти. Активната съставна част се смесва в стерилни условия с физиологично приемлив носител и някои консерванти, буфери, или пропеленти, както може да се изисква. Офталмологичните лекарствени форми, очни мехлеми, прахове и разтвори също се разглеждат като включени в обхвата на настоящето изобретение.

Съгласно предпочитан вариант за изпълнение на настоящето изобретение, белязаното съединение се вкарва в пациента в откриваемо количество, и след като изтече достатъчно време, през което съединението да се свърже с амилоидните отлагания, белязаното съединение се открива не-инвазивно вътре в пациента. Съгласно друг вариант за изпълнение на настоящето изобретение, белязано съединение с формула I се вкарва в пациента, оставя се достатъчно време за съединението, за да се свърже с амилоидните отлагания, и след това се отделя проба от тъканта на пациента, и белязаното съединение в тъканта се открива извън пациента. Съгласно трети вариант за изпълнение на настоящето изобретение, взима се тъканна проба се от пациента, и белязано съединение с формула I се вкарва в тъканната проба. След като изтече достатъчно дълъг период от време, през което съединението да се свърже с амилоидните отлагания, съединението се открива.

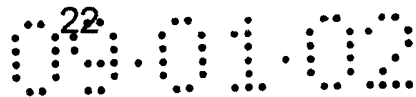
Прилагането на белязаното съединение върху пациента може да стане по общ, или по локален начин на приложение.

Например, белязаното съединение може да се приложи върху пациента по такъв начин, че то да се разпространи в тялото.

Алтернативно, белязаното съединение може да се приложи върху специфичен орган, или тъкан, които представляват интерес. Например, желателно е да се локализира и да се определят количествено амилоидните отлагания в мозъка, с цел да се диагностицира, или да се проследи развитието на болестта на Алцхаймер у пациент.

Терминът "тъкан" означава част от тялото на пациента. Примерите за тъкан включват мозъкът, сърцето, черния дроб, кръвоносните съдове, и артериите. Откриваемо количество е онова количество от белязано съединение, необходимо, за да бъде открито посредством избрания метод за откриване. Количеството на белязано съединение, което се вкарва в пациента с цел да се предостави за откриване може лесно да се определи от специалистите в областта на техниката. Например, на пациента може да се дават повишаващи се количества от белязаното съединение, докато съединението се открие чрез избрания метод за откриване. Белязаният изотоп се вкарва в съединението, за да осигури откриването на съединенията.

Терминът "пациент" означава хора, или други животни. Специалистите в областта на техниката знаят много добре как да определят количеството време, достатъчно на съединението, за да се свърже с амилоидните отлагания. Необходимото количество време може лесно да се определи, като се вкара откриваемо количество от белязано с изотоп съединение с формула I в пациента, и след това да се открие белязаното с радиоактивен изотоп съединение след различни периоди от време след приложението му. Белязано с изотоп



съединение с формула I е всяко едно съединение от изброените тук, имащи най-малко един радиоактивен елемент като част от структурата.

Терминът “свързан” означава химично взаимодействие между белязано с изотоп съединение и амилоидното отлагане. Примерите за свързвания включват ковалентни връзки, йонни връзки, хидрофилно-хидрофилни взаимодействия, хидрофобно-хидрофобни-взаимодействия, и комплекси.

Специалистите в областта на техниката са запознати много добре с различните начини за определяне на съединения, белязани с изотопи. Например, изображение с магнитен резонанс (MRI), томография с емисия на позитрони (PET), или компютърна томография с емисия на единични фотони (SPECT) могат да се използват за откриване на съединения, белязани с радиоактивни изотопи. Радиоактивният изотоп, който се вкарва в съединението зависи от избрания метод на откриване. Например, ако е избран метода на PET като метод за откриване, съединението трябва да притежава атом с позитронна емисия, такъв като ^{11}C , или ^{18}F .

Друг пример за подходящ радиоактивен изотоп за белязане на съединение с формула I е атом, такъв като ^{13}C , ^{15}N , ^{11}C , или ^{19}F , който може да бъде открит, като се използва изображението на магнитния резонанс (MRI), което също така понякога се нарича ядрено-магнитен резонанс (NMRI). Освен това, белязаните с изотоп съединения с формула I могат също да бъдат открити посредством (MRI), използвайки парамагнитни контрастни средства. Съединения, имащи радиоактивен елемент като част от тяхната структура се получават лесно посредством стандартни синтетични методи.

Друг пример за откриване е електронен парамагнитен резонанс (EPR). В този случай, могат да се използват EPR-сондите, които са добре известни в областта на техниката, такива като нитроксиди.

Това изображение на амилоидни отлагания може също така да се осъществи количествено, така че да може да се определи количеството на амилоидните отлагания.

Настоящото изобретение също така предоставя метод за инхибиране на натрупвания на амилоидни протеини, които образуват амилоидни отлагания, като върху пациента, който се нуждае от инхибиране на натрупвания на амилоидни протеини се прилага инхибиращо натрупвания на амилоидни протеини количество от съединение с формула I. Специалистите в областта на техниката са в състояние лесно да определят количество, инхибиращо амилоиди чрез обикновено приложение на съединение с формула I върху пациент, в нарастващи количества, докато нокато нарастването на амилоидните отлагания намалее, или спре. Скоростта на нарастване може да се изследва, като се използва изображение, или като се вземе тъканна проба от пациента, и там се наблюдават амилоидните отлагания.

Пациент, който се нуждае от инхибиране на натрупвания на амилоидни протеини е пациент, имащ заболяване, или състояние, при което се натрупват амилоидни протеини. Примерите за такива заболявания, или състояния включват средиземноморска треска, синдрома на Muckle-Wells, идиопатична миелома, амилоидна полиневропатия, амилоидна кардиомиопатия, системна сенилна амилоидоза, амилоидна полиневропатия, наследствена церебрална хеморагия с амилоидоза, боластта на Алцхаймер, синдрома на Даун, Scrapie,

болестта на Кройцфелд-Якоб, Kuru, Gerstmann-Straussler-Scheinker синдром, медуларен карцином на тироидната жлеза, изолиран тахикардичен амилоид, β_2 -микроглобулинов амилоид при пациенти на диализа, миозитни клетъчни включвания, β_2 -амилоидни отлагания при заболяване с отпадане на мускулите, сърповидноклетъчна анемия, болест на Паркинсон, и аденом на Лангерхансовите острови при диабет тип 2.

Също така посредством настоящето изобретение се представят белязани с радиоактивен изотоп съединения с формула I, в които един, или повече атоми в съединението са били заместени с радиоактивен изотоп. Радиоактивният изотоп може да е който и да е радиоактивен изотоп. Обаче, ^3H , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{11}C , и ^{18}F са предпочитани. Специалистите в областта на техниката познават много добре методите, използвани за вкарване на радиоактивен изотоп в съединение. Например, получава се съединение с формула I, в което един въглероден атом е ^{11}C , или ^{14}C , и по този начин то е белязано с радиоактивен изотоп съединение.

Съединенията съгласно настоящето изобретение могат да се прилагат върху пациент в нива на дозиране в границите от приблизително 0,1 до приблизително 1,000 mg на ден. За обикновен възрастен човек, имащ телесно тегло от приблизително 70 kg, дозиране в границите от приблизително 0,1 до приблизително 100 mg на килограм телесно тегло на ден е достатъчно. Използуваното специфично дозиране, обаче, може да варира. Например, дозирането може да зависи от голям брой фактори, включващи изискванията на пациента, колко тежко е заболяването, което трябва да се лекува, и фармакологичната активност на съединението, което се използва.

Определянето на оптималните дозирания за отделен пациент е добре познато на специалистите в областта на техниката.

Примерите, представени по-долу са предназначени да илюстрират специфични варианти за изпълнение на изобретението, и не са предназначени да ограничаван обхвата на техническата същност, включително на претенциите, по никакъв начин.

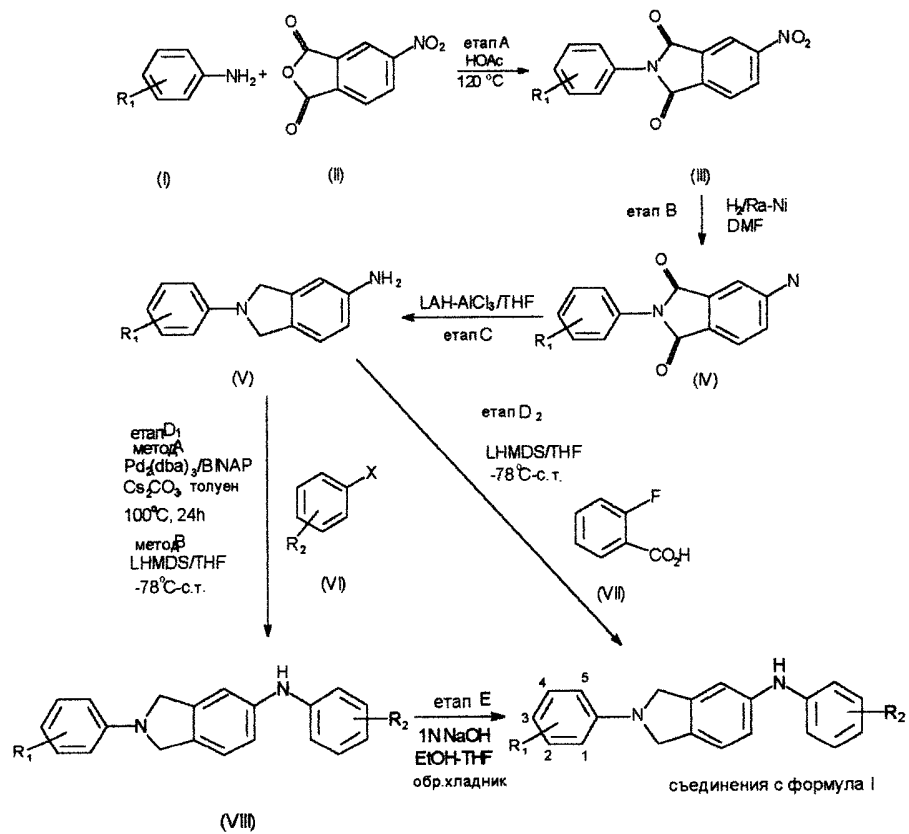
ПРИМЕРИ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Съединенията с формула I могат да се получат по синтетични начини съгласно скицата на схема I. Подходящо заместен анилин (I) и 5-нитоизобензофуран-1,3-дион(II), или заместен по подобен начин фуран водят до получаването на съответните фталимиди (III), когато се нагряват в оцетна киселина.

Стандартни условия на хидрогениране, такива като Реней-никел/DMF, на (III) водят до получаването на редуцирания фталимид (IV). Редуцирането на фталимид (IV), използвайки стандартни средства за редуциране, такива като литиево алуминиев хидрид, дава амин (V). Като се използват условия на Buchwald-ова реакция (J. F. Hartwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998:37:2046 – 2067), (V) може да се конвертира до (VIII), като си взаимодействува с (V), и различни заместени метилови естери на 2-бромбензоена киселина (VI) в присъствие на цезиев карбонат, трис(дибензилиденацетон)-дипаладий(0), и (S)-(2,2'-бис(ди-р-толилфосфино-1,1'-бинафтил) (BINAP) (метод А). Освен това, (VIII) може също така да се получи чрез взаимодействие на (V) с различни заместени метилови естери на 2-флуорбензоена киселина (VI) в присъствие на литиев диметил бис(триметилсилил)амид (LHMDS) (Метод В). Следващо осапунване на (VIII), използвайки стандартни условия,

такива като воден разтвор на натриев хидроксид, водят до получаване на желаните заместени изоиндолини с формула I. Освен това, (V) може да се конвертира директно в съединение с формула I, чрез взаимодействие на (V) с 2-флуорбензоена киселина (VII) в присъствие на LHMDs.

Схема 1



09.01.02

Пример 1

Получаване на

2-[2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина

Етап А: Получаване на

5-нитро-2-(2,3,4-триметокси-фенил)изоиндол-1,3-дион

Смес от 2,3,4-триметоксифениламин (91,61 g, 0,50 mol) и 5-нитроизобензофуран-1,3-дион (96,56 g, 0,5 mol) в оцетна киселина (1000 mL) се нагрява при температура на кипене под обратен хладник в продължение на 2 часа. След охлаждане утайката се филтрира и се промива с H₂O (1L), 1N NaOH (1,5 L), и H₂O (1L). Получената утайка се разпрашава с врящ MeOH, филтрира се и се суши във вакуум при (67°C) в продължение на 16 часа, при което се получава жълт твърд продукт, 144,0 g, (0,40 mol, 80 %) от желанния продукт. Точка на топене (т.т.) 245 - 247°C. Анализ за C₁₇H₁₄N₂O₄: изчислено: C, 56,98; H, 3,94; N, 7,82; Намерено: C, 56,80; H, 4,08; N, 7,80.

Етап В: Получаване на

5-амино-2-(2,3,4-триметокси-фенил)изоиндол-1,3-дион

Проба от 5-нитро-2-(2,3,4-триметокси-фенил)изоиндол-1,3-дион (89,0 g, 0,25 mol) в THF (1,25L), MeOH (1,25L), и DMF (100 mL) се редуцира в присъствието на Ra-Ni (12 g,) при 28°C до 36°C ($\Delta P = 7,5$ psi). Реакционната смес се филтрира, и филтратът се концентрира във вакуум, и се суши във вакуум при (67°C) в продължение на 16 часа, при което се получава мръсно-бял твърд продукт, 81,6 g, (0,25 mol, 85 %) от желанния продукт. т.т. > 280°C. Анализ за C₁₇H₁₄N₂O₅: изчислено: C, 62,09; H, 4,92; N, 8,52; Намерено: C, 61,71; H, 4,94; N, 8,48.



Етап С: Получаване на

2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Разтвор от AlCl_3 (8,12 g, 60,92 mmol) в THF (200 mL) се прибавя бавно към суспензия от LiAlH_4 (1M/THF 187 mL, 182,75 mmol) при -40°C , и се оставя при разбъркване в продължение на 10 минути. Температурата се повишава до 0°C и бавно, на порции, се прибавя суспензия от 5-амино-2-(2,3,4-триметоксифенил)-изоиндол-1,3-дион (20,0 g, 60,92 mmol) в THF (500 mL). Реакционната смес се разбърква в продължение на 3 часа, докато температурата достигне до стайна температура (ст.т.). Сместа се охлажда отново до 0°C , и внимателно се прекратява реакцията, като се прибавя 25 % NaOH (33 mL), и след това H_2O (7,3 mL). След това сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 2 часа, филтрира се през целит, концентрира се, и се суши във вакуум при (60°C) в продължение на 16 часа, при което се получава блед твърд продукт, 10,8 g, (35,96 mmol, 59 %) от желания продукт. т.т.: $213 - 215^\circ\text{C}$. Анализ за $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 14 \text{H}_2\text{O}$: изчислено: C, 67,41; H, 6,75; N, 9,25; Намерено: C, 67,03; H, 6,62; N, 8,98.

Етап D₁: Получаване на

метилов естер на 2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

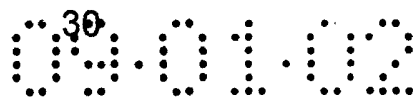
Смес от 2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (1,2 g, 4,0 mmol), метилов естер на 2-бром-бензоена киселина (0,72 g, 3,3 mmol), цезиев карбонат (1,52 g, 4,7 mmol), трис(дибензилиденацетон-дипаладий(0)) (91 mg, 0,1 mmol), и (S)-(2,2'-бис(ди-р-толилфосфино)-1,1'-бинафтил (98 %, (S)-тол-BINAP) (102 mg, 0,15 mmol)(L/Pd = 1,5) в безво-

ден толуен (30 mL) се нагрива при 100°C в продължение на 24 часа в атмосфера на N₂. След охлаждане, реакционната смес се разрежда с етер, филтрира се през целит, и се промива с етер. Филтратът се изпарява до сухо, при което се получава кафяв остатък. След пречистване посредством флаш хроматография (силика гел, 10 % EtOAc/хексан) се получават 1,39 g, (3,2 mmol, 80 %) от желания продукт. Точка на топене 128-129°C. Анализ за C₂₅H₂₆N₂O₅: изчислено: C, 69,11; H, 6,03; N, 6,45; Намерено: C, 69,39; H, 5,99; N, 6,13.

Етап Е: Получаване на

2-[2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина

Разтвор на метилов естер на 2-[2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина (1,30 g, 2,99 mmol) и 1N NaOH (воден разтвор) (20,0 mL) в EtOH (5,0 mL) и THF (20 mL) се нагрива при температура на кипене под обратен хладник в продължение на 16 часа. Разтворителят се отстранява във вакуум. Остатъкът се разрежда с H₂O и се подкислява с концентрирана HCl до pH 1. Получената утайка се събира чрез филтриране, и се разпрашава с горещ MeOH - H₂O (4:1), и се суши във вакуум в продължение на 2 часа, при което се получава пример 1, кафяв твърд продукт (0,96 g, 2,28 mmol, 76 %). Точка на топене 194 - 195°C. Анализ за C₂₄H₂₄N₂O₅: изчислено: C, 68,56; H, 5,75; N, 6,66; Намерено: C, 68,19; H, 5,57; N, 6,47.

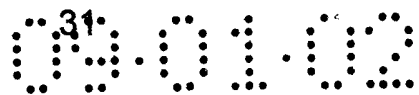


Пример 2

Получаване на

5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Смес от 2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (1,81 g, 6,03 mmol), метилов естер на 2-бромо-5-нитро-бензоена киселина (1,49 g, 6,02 mmol), цезиев карбонат (2,75 g, 8,44 mmol), трис(добензилиденацетон-дипаладий(0)) (166 mg, 0,18 mmol), и (S)-(2,2'-бис(ди-р-толил-фосфино)-1,1'-бинафтил (98 %, (S)-тол-BINAP) (184 mg, 0,27 mmol) (L/Pd = 1,5) в безводен толуен (30 mL) се нагрива при 100°C в продължение на 48 часа в атмосфера на N₂. След охлаждане, реакционната смес се разрежда с етер, филтрира се през целит, и се промива с етер. Филтратът се изпарява до сухо, при което се получава кафяв остатък (6,3 g). Остатъкът се разтваря в EtOH (100 mL) и THF (20 mL), прибавя се 5N NaOH (воден разтвор) (40 mL), и сместа се нагрива при температура на кипене под обратен хладник в продължение на 16 часа. Разтворителят се отстранява във вакуум. Остатъкът се подкислява с концентрирана HCl до pH 3. Получената утайка се събира чрез филтриране, и се разпрашава с горещ MeOH - H₂O (4:1), и се суши във вакуум в продължение на 16 часа, при което се получава пример 2, жълт твърд продукт (1,8 g, 3,87 mmol, 64 %). Точка на топене > 220°C. Анализ за C₂₄H₂₃N₃O₇·0,71 H₂O: изчислено: C, 60,27; H, 5,15; N, 8,79; Намерено: C, 59,88; H, 4,90; N, 8,42.

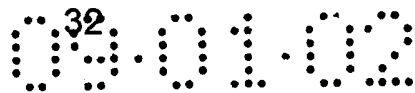


Пример 3

Получаване на

4-метокси-5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Към охладен (-78 °C) разтвор на 2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (535mg, 1,78 mmol) в THF (15 mL), се прибавя на капки LHMDs (3,56 mL, 1M в THF 3,56 mL). Реакционната смес се разбърква при -78°C в продължение на 10 минути. Прибавя се на капки разтвор на метилов естер на 2-флуоро-4-метокси-5-нитро-бензоена киселина (408 g, 1,78 mmol) в THF (10 mL), и този разтвор се разбърква в продължение на 30 минути при -78 °C. Реакционната смес се оставя да се загрее постепенно до стайна температура и се разбърква в продължение на 2 часа в атмосфера на N₂. Реакционната смес се разрежда с EtOAc, и се подкислява с 5N HCl (pH 3). Органичния слой се суши (Na₂SO₄), филтрира се, и се концентрира във вакуум, при което се получава кафяв остатък. Към разтвор на този остатък в EtOH (20 mL) и THF (40 mL), се прибавя 5N NaOH (воден разтвор, 50 mL), и сместа се нагрява при температура на кипене под обратен хладник в продължение на 16 часа. Разтворителят се отстранява и остатъкът се подкислява с концентрирана HCl (pH 3). Утайката се събира чрез филтриране, и се разпрашава с горещ MeOH - H₂O (2:1), и се суши във вакуум в продължение на 16 часа, при което се получава пример 3, блед твърд продукт (550 g, 1,11 mmol, 62 %). Точка на топене > 200°C. Анализ за C₂₅H₂₅N₈O₇·0,42 H₂O: изчислено: C, 59,09; H, 5,18; N, 8,35; Намерено: C, 59,30; H, 4,80; N, 8,24.



Пример 4

Получаване на

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-
бензоена киселина

Етап А: Получаване на

2-(3,4-дихлорфенил)-5-нитро-изоиндол -1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 3,4-дихлорфениламин (48,6 g, 0,3 mol) и 5-нитро-изобензофуран-1,3-дион (57,9 g, 0,3 mol) в оцетна киселина (50 mL), използвайки методиката, описана в пример 1, етап А, при което се получава жълт твърд продукт, 72,6 g, (0,22 mol, 72 %) от желания продукт. Точка на топене (т.т.) 210 - 211°C. Анализ за $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$: изчислено: C, 49,88; H, 1,79; N, 8,31; Намерено: C, 49,71; H, 1,87; N, 8,34.

Етап В: Получаване на

5-амино-2-(3,4-дихлорфенил)-изоиндол -1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-дихлорфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион (106,9g, 0,32mol), Ra-Ni (5 g) в THF (0,8 L) при 20 °C до 76 °C ($\Delta P = 9,5$ psi), използвайки методиката, описана в пример 1, етап В, при което се получава жълт твърд продукт, 80,0 g, (0,26 mol, 81 %) от желания продукт. Точка на топене (т.т.) 255 - 257°C. Анализ за $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2$: изчислено: C, 54,74; H, 2,63; N, 9,12; Намерено: C, 54,59; H, 2,65; N, 9,57.

Етап D₁: получаване на

2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Съединението съгласно заглавието се получава от 5-амино-2-(3,4-дихлорфенил)-изоиндол-1,3-дион (15,0 g, 0,049 mol), $AlCl_3$ (6,51 g, 0,049 mol) $LiAlH_4$ (5,56 g, 0,147 mol) в THF (1000 mL), използвайки методиката, описана в пример 1, етап

C, при което се получава кафявочервеникав твърд продукт, 12,23 g, (0,044 mol, 90 %) от желания продукт. Точка на топене (т.т.) 207 - 209°C. Анализ за $C_{14}H_{12}N_2Cl_2$: изчислено: C, 60,23; H, 4,33; N, 10,03; Намерено: C, 59,91; H, 4,36; N, 9,90.

Етап C: Получаване на
2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (4,04 g, 14,47 mmol), метилов естер на 2-бромо-бензоена киселина (2,59 g, 12,06 mmol), цезиев карбонат (5,50 g, 16,88 mmol), трис(дибензилиденацетон-дипаладий(0)) (331 mg, 0,36 mmol), и (S)-(2,2'-бис(ди-р-толилфосфино-1,1'-бинафтил (98 %, (S)-тол-BINAP) (368 mg, 0,54 mmol)(L/Pd = 1,5) в безводен толуен (80 mL), и 5N NaOH (воден разтвор) (100 mL) в EtOH (20 mL) и THF (40 mL), използвайки методиката, описана в пример 2, при което се получава кафяв твърд продукт, 3,11 g, (7,79 mmol, 54 %) от желания продукт. Точка на топене (т.т.) > 210 °C. Анализ за $C_{21}H_{16}N_2O_2Cl_2$: изчислено: C, 63,17; H, 4,04; N, 7,02, Cl, 17,76; Намерено: C, 63,31; H, 3,94; N, 6,73; Cl, 17,75.

Пример 5

Получаване на
2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (3,00 g, 10,75 mmol), метилов естер на 2-бромо-5-нитробензоена киселина (2,67 g, 10,75 mmol), цезиев карбонат (4,90 g,

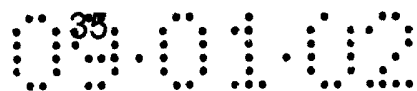
15,04 mmol), трис(добензилиденацетон-дипаладий(0)) (295 mg, 0,32 mmol), и (S)-(2,2'-бис(ди-р-толилфосфино)-1,1'-бинафтил (98 %, (S)-тол-BINAP) (328 mg, 0,48 mmol) (L/Pd = 1,5) в безводен толуен (80 mL), и 5N NaOH (воден разтвор) (100 mL) в EtOH (40 mL) и THF (100 mL), използвайки методиката, описана в пример 2, при което се получава кафяв твърд продукт, 3,64 g, (8,19 mmol, 76 %) от желанния продукт. Точка на топене (т.т.) > 222°C. Анализ на $C_{21}H_{15}N_3O_4Cl_2 \cdot 0,1 H_2O \cdot 0,25 MeOH$: изчислено: C, 56,21; H, 3,60; N, 9,25; Намерено: C, 56,54; H, 3,74; N, 8,86.

Пример 6

Получаване на

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-метокси-5-нитро-бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (801 mg, 2,87 mmol), LHDMS (5,74 mL, 1M в THF, 5,74 mmol), метилов естер на 2-флуоро-4-метокси-5-нитро-бензоена киселина (658 g, 2,87 mmol), в THF (50 mL), и 5N NaOH (воден разтвор, 100 mL) в EtOH (20 mL) и THF (40 mL), използвайки методиката, описана в пример 3, при което се получава кафяв твърд продукт, 1,07 g, (2,26 mmol, 79 %) от желанния продукт. Точка на топене (т.т.) > 230°C. Анализ на $C_{22}H_{17}N_3O_5Cl_2$: изчислено: C, 55,71; H, 3,61; N, 8,86; Намерено: C, 55,43; H, 3,57; N, 8,80.



Пример 7

Получаване на

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-
бензоена киселина

Етап А: Получаване на

2-(3-хлорфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион

Смес от 3-хлоранилин (31,89 g, 0,25 mol), и 5-нитро-изобензенфуран-1,3-дион (48,28 g, 0,250 mol) в оцетна киселина (800 mL) се нагрява при температура на кипене под обратен хладник в продължение на 4,5 часа (130 - 140 °C) След охлаждане утайката се филтрира и се промива с вода (650 mL), 1N NaOH (330 mL) и вода (500 mL), при което се получава бял твърд продукт, 61,01 g, (0,202 mol, 81 %). т.т.: 210 - 212°C. Анализ на $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$: изчислено: C, 55,56; H, 2,33; N, 9,26; Намерено: C, 55,78; H, 1,69; N, 9,15.

Етап В: Получаване на

5-амино-2-(3-хлорфенил)-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3-хлоро-фенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион (60,94 g, 0,20 mol) в DMF (1,2 L) и се редуцира в присъствие на Ra-Ni (60 g), при 22°C до 28°C ($\Delta P = 6,0$ psi). Реакционната смес се филтрира, и филтратът се концентрира във вакуум, и след това се суши във вакуум при (60°C) в продължение на 18 часа, при което се получава зелен твърд продукт, 54,31 g, (0,20 mol, 99 %) от желания продукт. т.т. 203 - 205°C. Анализ на $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2$: изчислено: C, 61,66; H, 3,33; N, 10,27; Намерено: C, 61,27; H, 3,40; N, 9,98.

Етап С: Получаване на

2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Разтвор от AlCl_3 (4,89 g, 0,037 mol) в THF (200 mL) се прибавя бавно към суспензия от LiAlH_4 (4,17 g, 0,110 mol) в THF (150 mL), при -40°C , и се оставя при разбъркване в продължение на 10 минути. Температурата се повишава до 0°C и се разбърква в продължение на още 10 минути. Прибавя се на капки разтвор от 5-амино-2-(3-хлорфенил)-изоиндол-1,3-дион (10,0 g, 0,037 mol) в THF (300 mL). Реакционната смес се разбърква в продължение на 3 часа, докато температурата достигне до стайна температура. Сместа се охлажда отново до 0°C , и реакцията се потушава с 30 % NaOH (20 mL), и след това с H_2O (40 mL). Разтвора се филтрира през целит, концентрира се, и се суши във вакуум при (60°C) в продължение на 16 часа, при което се получава светло кафяв твърд продукт, 5,24 g, (0,021 mol, 58 %) от желанния продукт. т.т.: $178 - 186^\circ\text{C}$. Анализ за $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2 \cdot 0,11 \text{ mol H}_2\text{O}$: изчислено: C, 68,16; H, 5,40; N, 11,36; Намерено: C, 68,33; H, 5,46; N, 10,96.

Етап D₂: Получаване на

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина

Към 2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (3 g, 0,012 mol) в THF (100 mL), се прибавя на капки LHMDs (36,78 mL, 1M в THF 36,78 mmol) при -78°C , и се разбърква в продължение на 10 минути при -78°C . Прибавя се на капки 2-флуорбензоена киселина (1,72 g, 0,12 mol) в THF (100 mL), и разтвора се разбърква в продължение на 1 час при -78°C , и след това се оставя да се загрее постепенно до стайна температура, и се разбърква в продължение на 16 часа



Реакционната смес се концентрира, подкислява се с 3М HCl (100 mL), и след това се екстрахира с CH₂Cl₂ (3 x 150 mL). Органичният слой се суши (Na₂SO₄ филтрира се, и се концентрира във вакуум, при което се получава кафяв твърд продукт. Продукта се разтваря в MeOH (25 mL) и се разбърква при стайна температура в продължение на 10 минути. Прибавя се вода, за да се получи утайка. Продукта се филтрира и се промива с 1:4 MeOH:H₂O (400 mL), при което се получава кафяв твърд продукт, 1,02 g, (2,80 mmol, 23 %) от желанния продукт. Точка на топене 209 - 212°C. Анализ за C₂₂H₁₇N₃O₅Cl₂·0,29 mol·H₂O: изчислено: C, 68,16; H, 4,79; N, 7,57; Намерено: C, 67,76; H, 4,56; N, 7,83.

Пример 8

Получаване на

2-[2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-
бензоена киселина

Етап А: Получаване на

2-(4-хлорфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 4-хлорофениламин (19,14 g, 0,150 mol) и 5-нитро-изобензофуран-1,3-дион (28,97 g, 0,150 mol), в оцетна киселина (300 mL), използвайки методиката, описана в пример 1, етап А, при което се получава оранжев твърд продукт, 42,49 g, (0,140 mol, 94 %) от желанния продукт. т.т. 198 - 200°C. Анализ на C₁₄H₆N₂O₄Cl₂: изчислено: C, 55,56; H, 2,33; N, 9,26; Намерено: C, 55,52; H, 1,74; N, 8,90.

Етап В: Получаване на

5-амино-2-(4-хлорфенил)-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(4-хлорфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион (41,68 g, 0,138 mol), Ra-Ni (40 g) DMF (1,0 L) при 20°C до 27°C ($\Delta P = 28,5$ psi), използвайки методиката съгласно пример 1, етап В, при което се получава зелен твърд продукт, 40,13 g, (0,147 mol, 107 %) от желания продукт. т.т. 0,228 - 230°C. Анализ на $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2 \cdot 0,34$ mol H_2O : C, 60,31; H, 3,50; N, 10,05; Намерено: C, 59,92; H, 4,05; N, 11,01.

Етап С: Получаване на

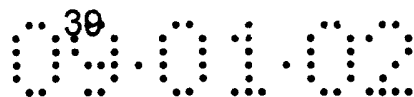
2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Съединението съгласно заглавието се получава от 5-амино-2-(4-хлорфенил)-изоиндол-1,3-дион (10,0 g, 0,037 mol), $AlCl_3$ (4,89 g, 0,037 mol), $LiAlH_4$ (4,17 g, 0,110 mol) в THF (650 mL), използвайки методиката съгласно пример 1, етап С, при което се получава кафяв твърд продукт, 6,39 g, (0,026 mol, 71 %) от желания продукт. т.т. 204 - 210°C. Анализ на $C_{14}H_{12}N_2Cl_2$: изчислено: C, 68,72; H, 5,35; N, 11,45; Намерено: C, 68,54; H, 5,39; N, 11,16.

Етап D₂: Получаване на

2-[2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (3g, 0,012 mol), LHDMS (36,78 mL, 1M в THF, 36,78 mmol), 2-флуорбензоена киселина (1,72 g, .012 mol) в THF (200 mL), използвайки методиката описана в пример 1, етап D₂, при което се получава кафяв твърд продукт, 1,26 g, (0,003 mol, 28 %) от желания про-



дукт. т.т. 210 - 212°C. Анализ на $C_{22}H_{17}N_3O_5Cl_2 \cdot 0,11 \text{ mol } H_2O$:
C, 68,76; H, 4,73; N, 7,64; Намерено: C, 68,39; H, 4,47; N, 7,76.

Пример 9

Получаване на

2-[2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина

Етап А: Получаване на

2-(3,4-диметилфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 3,4-диметиланилин (30,30 g, 0,250 mol) и 5-нитроизобензофуран-1,3-дион (48,28 g, 0,250 mol), в оцетна киселина (500 mL), използвайки методиката, описана в пример 7, етап А, при което се получава жълт твърд продукт, 63,37 g, (0,234 mol, 94 %) от желания продукт. т.т. 173 - 174°C. Анализ на $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$: изчислено: C, 64,86; H, 4,08; N, 9,45; Намерено: C, 64,87; H, 3,74; N, 9,39.

Етап В: Получаване на

5-амино-2-(3,4-диметилфенил)-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-диметилфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион (63,37 g, 0,213 mol), Ra-Ni (50 g) DMF (1,0 L), MeOH (500 mL) при 22°C до 37°C ($\Delta P = 4,8 \text{ psi}$), използвайки методиката съгласно пример 7, етап В, при което се получава кафяв твърд продукт, 57,67 g, (0,217 mol, 100 %) от желания продукт. т.т. 215 - 218°C. Анализ на $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2 \cdot 0,06 \text{ mol } H_2O$: C, 71,87; H, 5,32; N, 10,48; Намерено: C, 71,49; H, 5,17; N, 10,49.

Етап С: Получаване на

2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Съединението съгласно заглавието се получава от 5-амино-2-(3,4-диметилфенил)-изоиндол-1,3-дион (7,5 g,

0,028 mol), AlCl_3 (3,75 g, 0,028 mol), LiAlH_4 (3,19 g, 0,084 mol) в THF (725 mL), използвайки методиката описана в пример 7, етап С, при което се получава кафяв твърд продукт, 4,69 g, (0,020 mol, 70 %) от желания продукт. т.т. 152 - 155°C. Анализ на $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2 \cdot 0,09 \text{ mol H}_2\text{O}$: С, 80,09; Н, 7,64; N, 11,67; Намерено: С, 79,72; Н, 7,45; N, 11,49.

Етап D₂: Получаване на

2-[2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (4 g, 0,017 mol), LHDMS (50,34 mL, 1M в THF, 50,34 mmol), 2-флуоро-бензоена киселина (2,35 g, .017 mol) в THF (200 mL), използвайки методиката описана в пример 7, етап D₂, при което се получава кафяв твърд продукт, 2,95 g, (0,008 mol, 49 %) от желания продукт. т.т. 198 - 202°C. Анализ на $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{Cl}_2 \cdot 0,52 \text{ mol H}_2\text{O}$: С, 75,11; Н, 6,31; N, 7,62; Намерено: С, 74,73; Н, 6,02; N, 7,75.

Пример 10

Получаване на

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорметилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Етап А: Получаване на

2-(4-хлоро-3-трифлуорметилфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 5-амино-2-хлорбензотрифлуорид (48,89 g, 0,250 mol) и 5-нитро-изобензофуран-1,3-дион (48,28 g, 0,250 mol), в оцетна киселина (500 mL), използвайки методиката, описана в пример 7,

041002

етап А, при което се получава мръсно-бял твърд продукт, 84,4 g, (0,222 mol, 90 %) от желания продукт. т.т. 165 - 168°C. Анализ на $C_{14}H_6N_2O_4Cl_2$: изчислено: С, 48,61; Н, 1,63; N, 7,56; Намерено: С, 48,50; Н, 1,29; N, 7,37.

Етап В: Получаване на

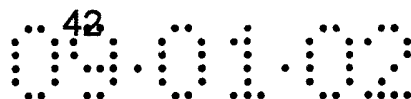
5-амино-2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-изоиндол-1,3-дион

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-5-нитро-изоиндол-1,3-дион (55,88 g, 0,150 mol), Ra-Ni (11,5 g) DMF (1,0 L), при 27°C (ΔP = 4,5 psi), използвайки методиката съгласно пример 7, етап В, при което се получава жълт твърд продукт, 56,60 g, (0,166 mol, > 100 %) от желания продукт. т.т. 198 - 201°C. Анализ на $C_{14}H_8N_2O_2Cl_2 \cdot 0,42 \text{ mol } H_2O$: С, 51,73; Н, 2,56; N, 8,04; Намерено: С, 52,12; Н, 2,70; N, 7,62.

Етап С: Получаване на

2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин

Съединението съгласно заглавието се получава от 5-амино-2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-изоиндол-1,3-дион (7,5 g, 0,022 mol), $AlCl_3$ (2,94 g, 0,022 mol), $LiAlH_4$ (2,51 g, 0,066 mol) в THF (700 mL), използвайки методиката описана в пример 7, етап С, при което се получава жълт твърд продукт, 5,78 g, (0,018 mol, 84 %) от желания продукт. т.т. 148 - 151°C. Анализ на $C_{14}H_{12}N_2Cl_2 \cdot 0,26 \text{ mol } H_2O$: С, 56,76; Н, 3,98; N, 8,83; Намерено: С, 56,42; Н, 2,79; N, 8,43.



Етап D₂: Получаване на

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-2,3-дихидро-1H-
изоиндол-5-иламино]бензоена киселина

Съединението съгласно заглавието се получава от 2-(4-хлоро-3-трифлуорометилфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин (1,75 g, 0,006 mol), LHDMS (16,80 mL, 1M в THF, 16,80 mmol), 2-флуоро-бензоена киселина (0,79 g, .006 mol) в THF (200 mL), използвайки методиката описана в пример 7, етап D₂, при което се получава кафяв твърд продукт, 0,690 g, (0,002 mol, 28 %) от желания продукт. т.т. 229 - 233°C. Анализ на C₂₂H₁₇N₃O₅Cl₂·0,47 mol H₂O: C, 59,88; H, 3,87; N, 6,35; Намерено: C, 59,48; H, 3,81; N, 6,60.

Пример 11

Получаване на

2-[2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-
иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Етап D₂: Получаване на

2-[2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-
иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Към 2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламин съгласно пример 7, етап C (2 g, 0,008 mol) в THF (100 mL), се прибавя на капки LHMDMS (24,51 mL, 1M в THF 24,15 mmol) при -78°C, и се разбърква в продължение на 10 минути при -78°C. Прибавя се на капки 2-флуоро-5-нитро-бензоена киселина (1,51 g, 0,008 mol) в THF (100 mL), и разтвора се разбърква в продължение на 1 час при -78 °C, и след това се оставя да се загрее постепенно до стайна температура, и се разбърква в продължение на 16 часа. Реакционната смес се концентрира и се подкислява с 3M HCl (100 mL). Полу-

ченият твърд продукт се филтрира и се промива с 10 % HCl, и след това се суши във вакуум, при което се получава кафяв твърд продукт. Продукта се прекристализира из MeOH и вода, при което се получава кафяв твърд продукт, 0,250 g, (0,0006 mmol, 7,5 %) от желанния продукт. Точка на топене: цветът се променя при 130°C, не се стопява при > 260°C. Анализ за C₂₁H₁₆N₃O₄Cl·0,24 mol·H₂O: C, 60,90; H, 4,01; N, 10,15; Намерено: C, 60,91; H, 4,01; N, 9,75.

Следващите съединения се получават съгласно общите методи, описани в горепосочените примери.

Пример 12

2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Точка на топене: > 280°C. Анализ изчислено за C₂₃H₂₁N₃O₄: C, 68,26; H, 5,27; N, 10,38; Намерено: C, 67,87; H, 5,17; N, 10,29.

Пример 13

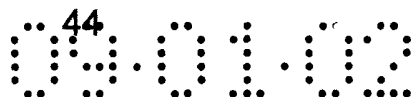
2-(2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина

Точка на топене: 220 - 240°C. Анализ изчислено за C₂₁H₁₈N₂O₄: C, 75,97; H, 5,52; N, 8,44; Намерено: C, 75,59; H, 5,70; N, 8,40.

Пример 14

2-[2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Точка на топене: > 260°C. Анализ изчислено за C₂₁H₁₆ClN₃: C, 60,90; H, 4,01; N, 10,15; Намерено: C, 60,91; H, 4,01; N, 9,75.



Пример 15

2-[2-(4-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина

Точка на топене: > 275°C. MS 410 (MH⁺).

Пример 16

[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-[2-(1H-тетразол-5-ил)-фенил-амин се синтезира съгласно описанието на пример 4, използвайки тетразол флуоро междинно съединение, което се синтезира от наличния в търговската мрежа 2-флуорбензонитрил и натриев азид при стандартни реакционни условия.

Точка на топене: 203 - 208 275°C, MS 423 (M).

Пример 17

5-амино-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина се получава при взаимодействието на нитро производното съгласно пример 5 с газ водород в присъствие на Реней никел. Точка на топене: 242 - 244°C. Анализ изчислено за C₂₁H₁₇N₃O₄: теоретично: С, 60,08; Н, 4,43; N, 9,79; Намерено: С, 60,44; Н, 4,22; N, 9,40.

Пример 18

5-нитро-(2-(2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина.

Точка на топене: > 265°C. Аналитично изчислено за C₂₁H₁₇N₃O₄: С, 67,19; Н, 4,56; N, 11,19; Намерено: С, 66,98; Н, 4,30; N, 10,86.

09.01.00⁴⁵

Пример 19

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина.

Точка на топене: > 260°C. Аналитично изчислено за C₂₂H₁₅ClF₃: C, 51,55; H, 3,71; N, 8,20; Намерено: C, 51,15; H, 3,41; N, 8,17.

Пример 20

2-[2-(3-флуоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина. Точка на топене: > 265°C, MS 392 (M⁺).

Пример 21

2-[2-(3-метокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина.

Точка на топене: > 290°C. Аналитично изчислено за C₂₂H₁₉N₃O₅: C, 64,52; H, 4,91; N, 10,12; Намерено: C, 64,84; H, 4,90; N, 9,72.

Пример 22

2-[2-(3-флуоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина.

MS 349 (M⁺). Аналитично изчислено за C₂₁H₁₇FN₂: C, 70,79; H, 5,06; N, 7,86; Намерено: C, 70,41; H, 4,80; N, 7,68.

Пример 23

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-флуоро-бензоена киселина.

Точка на топене: 230 - 236°C, MS 417 (M⁺).



Пример 24

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-никотинова киселина.

Точка на топене: 213 - 225°C, Аналитично изчислено за $C_{20}H_{15}Cl_2N_3$: С, 59,80; Н, 3,80; N, 10,46; Намерено: С, 59,41; Н, 3,82; N, 10,21.

Пример 25

2-[2-(3,4,5-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензонитрил.

Точка на топене: 129 - 131°C, Аналитично изчислено за $C_{24}H_{23}N_3O_3$: С, 71,80; Н, 5,77; N, 10,47; Намерено: С, 72,09; Н, 5,64; N, 10,23.

Пример 26

2-[2-(3-метокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина.

Точка на топене: 206 - 211°C.

Съединение съгласно изобретението може също така да се получи, като се използва комбинатива методология. Тази методика позволява бързото синтезиране на много аналози, които се обхващат от формула I в малки количества, с цел тестване, и след това най-мощните съединения могат да се синтезират в големи количества посредством конвенционални методи. Характерна комбинативна синтетична методика за съединения с формула II, например, се осъществява чрез взаимодействие на халогено заместени бензоатни естери с амин изоиндол, при което се образува съответният ариламино изоиндол, следващо осапунване до карбоксилната киселина с

формула I (например, където у е остатък от бензоена киселина). Реакциите протичат от порядъка на 0,15 mmol както следва. Разтвори от всеки един халогено бензоатен реактив (0,18 M) в толуен се поставя в 2 dram реакционни съдове. Всеки аминокиселинен реактив се разтваря в безводен толуен, при което се получават 0,15 M разтвори. Използва се пипета на Distrimsn, за прибавянето на 1 mL (0,15 mmol, 1 eq) от всеки халогено бензоатен разтвор в съответните съдове, съдържащи 1 mL (0,18 mmol, 1,2 eq) от аминокиселините реактиви. Получава се каталитичен разтвор, като се разтвори 0,025 M Pd₂(dba)₃ (дипаладий-тридифенилфосфин) и 0,075 M от BINAP (2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинаптил) в толуен, и се прибавят 0,25 mL от каталитичния разтвор във всеки реакционен съд. Прибавя се основа във всеки реакционен съд, обикновено цезиев карбонат (68 mg, 0,21 mmol, 1,40 eq), и реакционните съдове се затварят, и се поставят на апарат за разклащане, и се нагряват при 100 °C в продължение на 48 часа. След това реакционната смес се охлажда, и реакционните разтворители се отстраняват посредством изпаряване. Твърдият остатък се суспендира в 400 µL етил ацетат и се филтрира, за да се отстрани всички катализатор. Филтратите се концентрират до сухо чрез изпаряване, при което се получават съединения с формула I, в които частта от бензоената киселина е естерифицирана (например, бензилов, или метилов естер). Естерите се разтварят в 500 µL THF/етанол (1 : 1 обем/обем), към които се прибавят 300 µL 5 M натриев хидроксид. Разтворите се разклащат в продължение на 5 часа при 60 °C, и след това се охлажда и се концентрират до сухо чрез изпаряване на разтворителите, при което се получават желаните съединения с формула I.

Следващите съединения могат също така да се получат съгласно посочените по-горе методики:

2-(2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина;

5-нитро-2-(2-фенил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензонитрил;

[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-
(2-тетразол-1-ил-фенил)-амин

{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фенил}-оцетна киселина;

3-{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фенил}-пропионова киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-6-нитробензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-нитробензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-3-нитробензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-метансулфонил-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-сулфамоил-бензоена киселина;

4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-изофталова киселина;

3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-фталова киселина;

- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-трифлуорметил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-имидазол-1-ил-бензоена киселина;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-[2-тетразол-1-илметил-фенил]-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-[2-(2-тетразол-1-ил-етил)-фенил]-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил]-[2-(2-тетразол-1-ил-винил)-фенил]-амин;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-3-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-нитро-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-3,5-динитро-бензоена киселина;
- 3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-2-метил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-метокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-пропокси-бензоена киселина;
- 4-бутокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-пентилокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-4-гексилокси-бензоена киселина;

- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-хептилокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-октилокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-нонилокси-бензоена киселина;
- 4-децилокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-4-изопропокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(4-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-нитро-бензоена киселина;
- 2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;
- 2-(2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино)-5-нитро-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-нитро-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-5-метокси-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-3-нитро-бензоена киселина;
- 3-нитро-2-{2-[(4aS, 8aR)-4-(октахидро-изохинолин-2-ил)-фенил]-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино}-бензоена киселина;
- 2-{2-[(4aS, 8aR)-4-(октахидро-изохинолин-2-ил)-фенил]-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино}-бензоена киселина;
- 4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-ил-амино]-никотинова киселина;

2-[2-(4-дибутиламино-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-дибутиламино-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-бромо-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(2-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-дибутиламино-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-метокси-бензоена киселина;

4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-изофталова киселина;

2-(2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-диметокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихидрокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дифлуоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-флуоро-4-метил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4,5-трихидрокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-метил-3-трифлуорметил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,5-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(2,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина; или

2-[2-(4-флуоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина.

Съединенията с формула I са оценени по стандарта на рутинни изследвания *in vitro* и *in vivo*, използвани от специалистите в областта на техниката на научни изследвания на амилоиди, за оценяване на съединения, имащи полза при предотвратяване на образуването на амилоиден протеин и негово натрупване, и при определяне на потенциалното използване при лечението на заболявания, свързани с амилоид, такива като болестта на Алцхаймер. Следващите изследвания са добре установени като предсказващи клинично използване.

БИОЛОГИЧНИ ПРИМЕРИ

Изследване на амилоид

BASSR (Радиологично изследване на самозараждащ се бета-амилоид)

Изследване за инхибитори на нарастването на влакно от самозараждащ се амилоид.

Материали:

Изходни разтвори:

Буфер на изследването – 50 mM натриев фосфат, pH 7,5, 100 mM NaCl, 0,02 % NaN₃, 1 M урея (филтриране и съхраняване при 4°C)

Разтворим Aβ(1 – 40) пептид (Bachem, Torrance, CA) – 2,2 mg/mL в дейонизирана H₂O (съхранява се в проби при -20 °C, държи се върху лед, когато е стопен) ~~ще се~~ самозароди

след 1 седмица при съхранение. Характерно, разтворът ще се съхранява докато не се види lag фаза при изследването.

^{125}I – белязан А β (1 – 40) – 150K – 350K cpm/ μL в 100 % ацетонитрил – 0,1 % трифлуороцетна киселина (TFA) – 1 % β -меркаптоетанол (проби съхранявани при -20°C).

^{125}I – белязан А β (1 – 40) може да се приготви съгласно методиките, посочени от H. LeVine, III в Neurobiol. Aging, 16:755 (1995), което е включено тук за справка, или тези реактиви могат да се поръчат от Amersham, Arlington Heights, Illinois.

Крайни условия на изследване: 30 μL разтворим А β (1 – 40) в дейонизирана вода в буфер на изследването + 20 – 50 K cpm ^{125}I – белязан А β (1 – 40) за изследване. Съединението, което се изследва се разтваря в диметилсулфоксид (DMSO), характерно 5 – 50 mM суровина, така че крайната концентрация на DMSO в изследването да е $< 1\%$ обем/обем.

Изследване: Реакционна смес за 50 изследвания (в лед) се състои от 0,1 – 0,2 μL ^{125}I – белязан А β (1 – 40) + разтворим А β (1 – 40) + 13,5 μL буфер на изследване. Следващите са количествата на съставните части на реакционната смес, достатъчни за 50 ямки за изследване.

5 – 10 2 μL ^{125}I – белязан А β (1 – 40) изсушен с низходящ поток

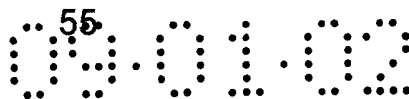
675 μL буфер на изследването

50 μL разтворим А β (1 – 40)

Метод на изследване

- 1) Приготвя се горната реакционна смес, като се смесят съединения и изходни суровини върху лед.

- 2) Отпипетират се 14,5 μL от реакционната смес във всяка една от 50 ямки на полипропиленовата U-дънна 96-ямкова плочка за микротитруване върху лед (Costar 3794).
- 3) Прибавят се 1,7 μL от разреденото съединение, което се изследва във всяка една ямка в колона от осем, включително контролата с разтворител. Серия от 3-кратни разреждания от 1 mM (финални 100 μM) в буфер на изследването – урея = 7 разреждания + нула. Следователно всяка 96-ямкова плочка може да побере 11 проби + 1 контрола с конго червено (Congo Red) (крайно 0,039 – 5 μM в 2-кратни етапи).
- 4) Плочката се покрива с алуминиево фолио (Beckman 538619) и се инкубира в продължение на 10 минути върху лед.
- 5) Температурата се повишава до 37°C и се инкубира в продължение на 3 до 5 часа (в зависимост от вида на пептида)
- 6) Алуминиевото фолио се отстранява и се прибавят 200 μL /на ямка ледено студен буфер на изследването с урея, като белязаните с радиоактивни изотопи влакна се събират посредством вакуум филтриране през 0,2 μm размери на порите, от вида GVWP B 96-ямкови плочки (Millipore MAGV N22, Bedford, MA). Определя се радиоактивността на филтрите, като се използват стандартни методи, добре познати на специалистите в областта на техниката.



BASST (самозараждащ се бета-амилоид, ТиофлавинТ)

Изследване за инхибитори на нарастването на влакно от самозараждащ се амилоид.

Материали:

Изходни разтвори:

Буфер на изследването – 50 mM натриев фосфат, pH 7,5, 100 mM NaCl, 0,02 % NaN₃, 1 M урея (филтриране и съхраняване при 4°C)

Разтворим Aβ(1 – 40) – 2,2 mg/mL в дейонизирана H₂O (съхранява се в проби при -20°C, държи се върху лед, когато е стопен) ще се самозароди след 1 седмично съхраняване. Характерно, разтворът ще се съхранява докато не се види lag фаза при изследването.

Крайни условия на изследване: 30 μL разтворим Aβ (1 – 40) в дейонизирана вода в буфер на изследването. Съединението, което се изследва се разтваря в DMSO, характерно 5 – 50 mM суровина, така че крайната концентрация на DMSO в да е < 1 % обем/обем.

Изследване: Реакционна смес за 50 изследвания (в лед) се състои от 1 μL разтворим Aβ (1 – 40) + 13,5 μL буфер на изследване. Следващите са количествата на съставните части на реакционната смес, достатъчни за 50 ямки за изследване.

50 μL разтворим Aβ (1 – 40)

675 μL буфер на изследването

Метод на изследване

- 1) Приготвя се горната реакционна смес, като се смесят съединения и изходни суровини върху лед.
- 2) Отпипетират се 14,5 μL от горната реакционната смес във всяка една от 50 ямки на полипропиленовата

U-дънна 96-ямкова плочка за микротитруване върху лед (Corning 25881-96).

3) Прибавят се 1,7 μL от разреденото съединение, което се изследва във всяка една ямка в колона от осем, включително контролата с разтворител. Серия от 3-кратни разреждания от 1 mM (финални 100 μM) в буфер на изследването – урея = 7 разреждания + нула. Следователно всяка 96-ямкова плочка може да побере 11 проби + 1 контрола с конго червено (Congo Red) (крайно 0,039 – 5 μM в 2-кратни етапи).

4) Плочката се покрива с алуминиево фолио и се инкубира в продължение на 10 минути върху лед.

5) Температурата се повишава до 37°C и се инкубира в продължение на 3 до 5 часа (в зависимост от вида на пептида)

6) Алуминиевото фолио се отстранява и се прибавят 250 μL /на ямка ледено от 5 μM тиофлавин Т (ThT) [T-3516, Sigma – Aldrich] в 50 μM глицин – NaOH, pH 8,5. Отчита се флуоресценцията с брояч за плочки ($\text{ex} = 440 \text{ nm}/20 \text{ nm}$; $\text{em} = 485 \text{ nm}/20 \text{ nm}$) в продължение на 5 минути.

ВАРА (Натрупване от бета-амилоиден пептид)

Това изследване се използва за да се предостави измерване на инхибирането от съединение срущу поведение на натрупване на бета амилоиден пептид.

Целта на това изследване е да се предостави по-голямо-обемен метод за изследване на количеството от натрупване на бета амилоид, използвайки крайна точка на изследване, на базата на филтриране. В това изследване, хексафлуоризо-

пропанол (HFIP) се използва за разрушаване на изходния амилоиден пептид до състояние на мономер, и използване на концентрация от 33 μM , която е достатъчно висока, така че натрупването да се появи при pH 6,0 след няколко часа.

Методи:

Отлагане на β -амилоиден пептид, pH 6,0 (BAPA)

В 96-ямкова плочка (Costar 3794) се прибавят 25 μL 50 mM фосфатен буфер, pH 6,0, 10 μL 0,5 mg/mL A β (1 – 40) пептид в 20 % HFIP + 0,1 μL /изследване белязан с радиоактивен изотоп на йода ^{125}I A β (1 – 40) [^{125}I A β (1 – 40)], и 1 μL от съединението, което се изследва, като начало с 50 mM с концентрация на DMSO < 1 %. След това се инкубира в продължение на от 2 до 4 часа при стайна температура. Реакцията се спира с 200 μL 50 mM фосфатен буфер, pH 6,0, и се филтрира през 0,2 μm 96-ямкова плоча (Millipore MAGU N22). Филтърната плоча се промива с 100 μL от същия фосфатен буфер. Отлагането се открива с брояч от вида Microbeta след импрегниране на филтрите с Meltilex (1450 – 441) и се прави корекция за фон.

Изследване ВАТУМ

Методи:

Необходимият A β (1 – 42) (California Peptide) се суши от неговия разтвор за съхранение хексафлуороизопропанол (KFIP). A β (1 – 42) се разтваря в диметилсулфоксид (DMSO) и след това се смесва с физиологичен разтвор буфериран с фосфатен буфер (PBS) (pH 7,4). Смесеният A β (1 – 42) разтвор се филтрира през 0,2 μm Omnipore membrane филтър спринцовка (Millipore, Bedford, MA). Съединението, което трябва да се изследва в DMSO (50 кратен концентрат) се поставя

във всяка една ямка (0,5 μL /ямка) от 96-ямкова плоча. От А β (1 – 42) разтвора се прибавя във всяка една ямка (24,5 μL /ямка). Плочката се центрофугира при 1,000 g в продължение на 5 минути и се инкубира при 37°C в продължение на 1 ден (А β 1 – 42; крайна концентрация 100 μM).

След инкубиране се прибавя разтвор на Тиофлавин Т (ThT) (30 μL) в глицин-NaOH буфер (pH 8,5, 50 μM) във всяка една ямка (250 μL /ямка), измерва се флуоресценцията (ex. 440/20 nm), използвайки брояч за флуоресценция на плочка. Инхибиращата активност се изчислява като намаляването на флуоресценцията със следващата формула:

Инхибиране (%) =

$$= \frac{(F(\text{А}\beta) - F(\text{А}\beta + \text{съединение}))}{(F(\text{А}\beta) - F(\text{разтворител} + \text{съединение}))} \times 100$$

IC_{50}^s (концентрацията на изследваното съединение, необходима, за да предизвика 50 % инхибиране на натрупването) се изчислява по кривата съгласно пригодена програма, използвайки следното уравнение. Данните се получават от два отделни експеримента в три повторения.

$$\text{Инхибиране (x)} = 100 - 100 / \{1 + (x / \text{IC}_{50})^n\},$$

x = концентрация на изследваното съединение (M),

$$\text{IC}_{50} = (\text{M}),$$

N = коефициент на Hill.

Представителните съединения с формула I са показали инхибираща активност (IC_{50}) в границите от приблизително 1 μM до повече от 100 μM в посочените по-горе изследвания. Резултатите от тези изследвания за специфични представителни съединения съгласно настоящето изобретение са показани на таблица 1 по-долу.

ТАБЛИЦА 1

Инхибираща активност спрямо амилоид

При- мер No.	BASSR IC ₅₀ μM	BASSR IC ₅₀ μM	BATYM IC ₅₀ μM	BAPA IC ₅₀ μM
1	5, 6, 10, 5 (P) 30, 20 (Q) >100,15 (R)	2, 1,6 (P) 3, 3 (Q) 15, 15 (R)	11,3 (P) 46,4 (Q) 59,7 (R)	72
2	30, 7,5, 10	2, 2, 2	14,1	
3	15, 6,2, 3,1, 4, 6, 4,5, 10, 12	3, 2,1	17,4	64
4	12, 11, 11 (P) 15, 15, 15 (Q)	2, 2, 2 (P) 2 (Q)	26,1 (P) 22,2 (Q)	101 (P) >100,93(Q)
5	5, 4,1, 3	3, 3, 3	11,4	
6	7, 7, 12 (P) 4, 5 (Q)	1 (P) 1,5 (Q)	13,5 (P) 14,6 (Q)	14
7	90, 80, >100	1,1	37,3	28
8	>100, >100	1	33,4	19
9	>100(ppt), >100	1,5	32,9	13
10	100, 58, 55, 70	3	34,6	16
11	2,5, 3,8, 5,2, 1,2, (P)	0,8, 1	12,6	>100
12	>100 (ppt)	1,1	11,7	5
13	>100 (P) >100 (Q) >100 (R) 52 (S) 60 (T)	1 (P) 8 (Q) 30 (R) 4 (S) 2 (T)	90,2, 60 (P) >100 (Q) >100 (R) 79,7 (S) 83 (T)	4,21 (P) 32 (Q) 11 (R)

При- мер No.	BASSR IC ₅₀ μM	BASSR IC ₅₀ μM	BATYM IC ₅₀ μM	BAPA IC ₅₀ μM
14	2,5, 1,2, 3,8, 5,2	0,8, 1,0	12,6	>100
15	>100 , >100	0,6	32,5	>100
16	>100 , >100 (ppt)	1,8	29,5	86
17	20 (ppt), 80	1,5	20	40
18	7 (ppt), 4,5	0,9, 1,0, 0,6	16,6	97
19	1,1 (v-форма) 1 (v-форма) 1 (v-форма)	1,0	12,8	>10
20	>100	2	11,5	>60
21	7, 2,2, 2,0	0,7	9,64	>60
22	10, 3, 3, 6,5, 8	6,2	84	>60
23	>100, 50, 70	3, 2, 2	34,1	62
24	5, 18, 18	0,8, 0,3, 0,3		
25	>100(ppt), >100, >100	15	>100	25
26	>100 (ppt)	10	64,9	>60

Буквите в скобите след специална стойност показват партидата на изследваното съединение. Например, 10 (P) показва, че изследваното съединение е от партида P. Ако не се уточнява партидата, партидата на съединението е партида P. P, Q, R, S и T са различни партии на съединението.

Съединенията съгласно изобретението са показани са показали също така при стандартно изследване *in vivo*, което обикновено се използва за оценяване на средства за лечение на заболявания, свързани с натрупване на амилоидни протеини, по-специално болестта на Алцхаймер, и други амилоидози. При едно изследване, амилоиден протеин се индуци-

ра в далака на мишка посредством подкожни инжектирания на сребърен нитрат, с цялостно помощно средство на Freund, и интравенозно инжектиране на амилоид увеличаващ фактор. Сребърния нитрат се прилага всеки ден до ден 11. Изследваните съединения се прилагат върху мишките ежедневно, стартирайки от ден 1, до ден 11. На ден 12, животните се умъртвяват, и далаците се отделят, приготвят се хистологични препарати, оцветяват се с Конго червено, и процента на площта от далака, заета от двойно пречупващ, оцветен с Конго червено амилоид се определя количествено микроскопски.

Друго *in vivo* изследване, при което съединенията съгласно изобретението са оценени, използва трансгенни мишки. Мишките пренасят предшественик на трансген на човешки β -амилоиден протеин, както е описано от Hsiao et al, "Correlative Memory Deficits, A β Elevation, and Amiloid Plaques in Transgenic Mice", Science 1996; 274:99 – 102. Тези трансгенни мишки развиват β -амилоидни отлагания приблизително на 9-месечна възраст. След 15 месеца, дифузни и компактни сенилни плаки са изобилни, първоначално в неокортекса, в обонятелната луковица, и хипокампуса. Съединенията съгласно изобретението се прилагат орално върху мишките, започвайки на възраст от 8 месеца (точно преди началото на амилоидните отлагания) и продължава в продължение на няколко месеца (до приблизително 14 – 18 месечна възраст). След това животните се умъртвяват, и мозъците се отделят. Количеството на амилоида в мозъка се определя количествено и по двата начина, и хистологично, и биохимично.

Горните данни констатират, че представителните съединения съгласно изобретението са активни при стандартни изследвания, използвани за измерване инхибирането на нат-

рупване на протеин. Съединенията показват отлична специфичност, например, както е показано в изследване BASST, така както и в изследванията ВАТУМ и ВАРА. Така че, съединенията са полезни за клинично итхибиране на натрупване на амилоиден протеин, и за изобразяване на амилоидни отлагания за диагностични цели. Съединенията биха се използвали под формата на фармацевтични лекарствени форми, и следващите примери илюстрират характерни състави.

Пример 27

Лекарствена форма таблетка

Съставни части	Количество
Съединение съгласно пример 1	50 mg
Лактоза	80 mg
Царевично нишесте (за смес)	10 mg
Царевично нишесте (за крем)	8 mg
Магнезиев стеарат (1 %)	2 mg
150 mg	

Съединението съгласно пример 1 е смесено с лактозата и с царевично нишесте (за смес), и се размесва до хомогенна прахообразна смес. Царевично нишесте (за крем) се суспендира в 6 mL вода и се нагрива при разбъркване, до като образува крем. Кремът се прибавя към прахообразната смес, и сместа се гранулира. Навлажнените гранули се пропускат през № 8 твърдо сито, и се сушат при 50°C. Сместа се омазнява с 1 % магнезиев стеарат, и се пресова под формата на таблетки. Таблетките се прилагат върху пациент в границите от 1 до

4 всеки ден, за предотвратяване на натрупване на амилоиден протеин, и за лечение на боластта на Алцхаймер.

Пример 28

Парентерален разтвор

В разтвор от 700 mL пропилен гликол и 200 mL вода за инжектиране, се прибавят 20,0g от съединение № 9. Сместа се разбърква, и се довежда до pH 5,5 със солна киселина. Обемът се довежда до 1000 mL с вода за инжектиране. Разтворът се стерилизира, пълнят се 5,0 mL ампули с него, като всяка една съдържа 2,0 mL (40 mg от съединение № 8), и се запечатва в азотна атмосфера. Разтворът се прилага посредством инжектиране върху пациент, страдащ от медуларен карцином на тироидната жлеза, и нуждаещ се от лечение.

Пример 29

Лекарствена форма пластир за рана

Десет милиграма от 2-{4-[3-(3,4-дихлоро-фенил)пропил]-фениламино}бензоена киселина се смесват с 1 mL пропилен гликол и 2 μ g леплив полимер на базата на акрилат, съдържащ смолисто средство с напречни връзки. Сместа се нанася върху непропусклива под ложка (30 cm²), и се налага на горната страна на гърба на пациент с амилоидна полиневропатия за лечение със забавено отделяне.

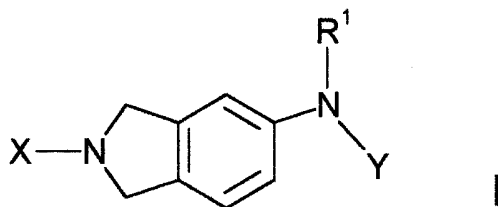
Изобретението и начина, и метода за получаване и за използването му, сега са описани изцяло с такива ясни, стегнати и точни термини, така че да дадат възможност на всеки специалист в областта на техниката, до който то се отнася, да направи и да използва същите. Трябва да се разбере, че горното описва предпочитани варианти за изпълнение на настоя-

64
09.01.02

щето изобретение, и могат да се правят модификации в него, без това да е отклонение от същността, или от обхвата на настоящето изобретение, както ясно е посочено в патентните претенции. За да се изтъкне и ясно да се защити изложената същност на изобретението, следващите претенции завършват това изложение.

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Съединения имащи формулата I:



или техни фармацевтично приемливи соли,
където

X е фенил, или заместен фенил;

Y е фенил, заместен фенил, пиридил, или заместен пиридил;

където заместеният фенил и заместеният пиридил могат да имат от 1 до 4 заместители, всеки един от които независимо се избира от групата, състояща се от $-C_1-C_{12}$ алкил, халоген, $-C_1-C_6$ алкил, фенил,

$$\begin{array}{cccc} \text{O} & \text{O} & \text{O} & \text{O} \\ \parallel & \parallel & \parallel & \parallel \\ -\text{CNR}'' & -\text{CNH-S-R}' & -\text{S-R}' & -\text{CO}_2\text{H}, -\text{CO}_2\text{R}'^1, -\text{NO}_2, -\text{CF}_3, -\text{CN}, \end{array}$$

$$\begin{array}{cc} \parallel & \parallel \\ \text{O} & \text{O} \end{array}$$

$$-\text{NR}^1\text{R}^2, -(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}, -(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{R}'^1, -\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2, \text{тетразол},$$

$$-(\text{CH}_2)_n\text{-тетразол}, \text{декахидроизохинолин}, \text{имидазол}, -(\text{CH}_2)_n$$

$$\text{имидазол}, -\text{CH} = \text{CH-тетразол}, -\text{CH} = \text{CH-имидазол}, \text{или}$$

$$\text{фенил};$$

R^1 и R^2 независимо са водород, или $-C_1-C_6$ алкил;

всеки n независимо е от 0 до 5 включително;

R'' е водород, $-C_1-C_6$ алкил, или фенил; и

R' е водород, $-C_1-C_6$ алкил, $-\text{CF}_3$, или фенил.

2. Съединение съгласно претенция 1, характеризира-що се с това, че

X е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, независимо избрани от групата, състояща се от $-\text{OC}_1-\text{C}_6$ алкил, халоген, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ алкил, $-\text{CF}_3$, или фенил.

3. Съединение съгласно претенция 1, характеризира-що се с това, че

Y е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, независимо избрани от групата, състояща се от $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OC}_1-\text{C}_{12}$ алкил, $-\text{CN}$, тетразол, $-(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, $-\text{CF}_3$, имидазол, $-(\text{CH}_2)_n$ -тетразол, $-(\text{CH}_2)_n$ имидазол, $-\text{CH} = \text{CH}$ -тетразол, или $-\text{CH} = \text{CH}$ -имидазол.

4. Съединение съгласно претенция 1, характеризира-що се с това, че

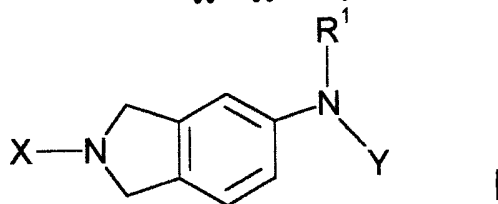
Y е заместен фенил, и заместеният фенил има от 1 до 3 заместители, един от които се избира от $-\text{CO}_2\text{H}$.

5. Съединение съгласно претенция 4, характеризира-що се с това, че групата $-\text{CO}_2\text{H}$ се намира на 2-ра позиция във фенолния пръстен.

6. Съединение съгласно претенция 2, характеризира-що се с това, че заместеният фенил има два хлорни заместителя, намиращи се на 3 и 4 позиция във фенолния пръстен.

7. Съединения, имащи формулата I:

67 09.01.02



или техни фармацевтично приемливи соли,
където

X е фенил, или заместен фенил,

където когато X е заместен фенил, заместеният фенил има от 1 до 4 заместители, всеки един от които независимо се избира от групата, състояща се от $-OC_1-C_6$ алкил, халоген, $-C_1-C_6$ алкил, $-CF_3$, или фенил;

Y е фенил, заместен фенил,

където когато Y е заместен фенил, заместеният фенил, има от 1 до 4 заместители, независимо избран от групата, състояща се от $-CO_2H$, $-NO_2$, $-OC_1-C_{12}$ алкил, $-CN$, $-CF_3$, $-(CH_2)_nCO_2H$, $-SO_2NR^1R^2$, тетразол, $-(CH_2)_n$ -тетразол, имидазол, $-(CH_2)_n$ имидазол, $-CH = CH$ -тетразол, или $-CH = CH$ -имидазол;

R^1 и R^2 независимо са водород, или $-C_1-C_6$ алкил; и всеки n независимо е от 0 до 5 включително.

8. Съединенията:

2-[2-(2,3,4-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

4-метокси-5-нитро-2-[2-(2,3,4-триметоксифенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1H-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлорфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-4-метокси-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлорфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-диметилфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорметилфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина; или

2-[2-(3-хлорфенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина.

9. Съединенията:

2-[2-фенил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-нитро-2-[2-фенил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]бензонитрил;

2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил)-(2-тетразол-1-ил-фенил)-амин;

{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-фенил}-оцетна киселина;

3-{2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-фенил}-пропионова киселина;

- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-6-нитробензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-4-нитробензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-3-нитробензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-метансулфонил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-сулфамоил-бензоена киселина;
- 4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-изофталова киселина;
- 3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-фталова киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-трифлуорметил-бензоена киселина;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-имидазол-1-ил-бензоена киселина;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил]-
(2-тетразол-1-илметил-фенил)-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил]-
[2-(2-тетразол-1-ил-етил)-фенил]-амин;
- [2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил]-
[2-(2-тетразол-1-ил-винил)-фенил]-амин;
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-5-метил-бензоена киселина; или
- 2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-3-метил-бензоена киселина;

10. Съединенията:

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-3,5-динитро-бензоена киселина;

3-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-2-метил-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-метокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-пропокси-бензоена киселина;

4-бутокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-пентилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-хексилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-хептилокси-бензоена киселина;

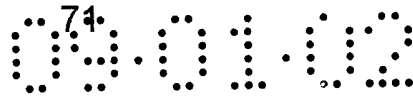
2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-октилокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-нонилокси-бензоена киселина;

4-децилокси-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-4-изопропокси-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил-амино]-5-нитро-бензоена киселина;



2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-(2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино)-5-нитро-бензоена киселина; или

2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина..

11. Съединенията:

2-[2-(3,4-диметил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-(2-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-ил]-[2-(1Н-тетразол-5-ил)-фенил]-амин;

5-амино-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-нитро-2-[2-фенил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-хлоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;;

2-[2-(3-флуоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;

2-[2-(3-метокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-5-нитро-бензоена киселина;;

2-[2-(3-флуоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-5-флуоро-бензоена киселина; и

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-никотинова киселина.

12. Съединенията:

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-5-метокси-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-3-нитро-бензоена киселина;

3-нитро-2-{2-[(4aS,8aR)-4-(октахидро-изохинолин-2-ил)-фенил]-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино}-бензоена киселина;

2-{2-[(4aS,8aR)-4-(октахидро-изохинолин-2-ил)-фенил]-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино}-бензоена киселина;

4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-никотинова киселина;

2-[2-(4-дибутиламино-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-дибутиламино-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-бромо-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(2-хлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-бензоена киселина;

5-дибутиламино-2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1H-индол-5-иламино]-5-метокси-бензоена киселина;

4-[2-(3,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-изофталова киселина;

2-(2-бифенил-4-ил-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино)-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-диметокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дихидрокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4-дифлуоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3-флуоро-4-метил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,4,5-трихидрокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(4-метил-3-трифлуорметил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(3,5-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

2-[2-(2,4-дихлоро-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина; или

2-[2-(4-флуоро-3-трифлуорометил-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина.

2-[2-(3,4,5-триметокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина; или

2-[2-(3-метокси-фенил)-2,3-дихидро-1Н-изоиндол-5-иламино]-бензоена киселина;

13. Фармацевтичен състав, характеризиращ се с това, че съдържа в него съединение съгласно претенция 1 заедно с

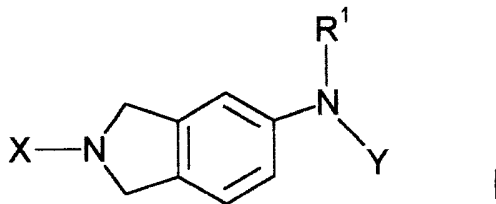
фармацевтично приемлив носител, разредител, или инертен пълнител.

14. Метод за лечение на болестта на Алцхаймер, характеризиращ се с това, че се състои в приложение върху пациент, страдащ от болестта на Алцхаймер, на терапевтично ефективно количество от съединение съгласно претенция 1.

15. Метод за инхибиране на натрупването от амилоидни протеини да образува амилоидни отлагания, характеризиращ се с това, че се състои в приложение върху пациент, нуждаещ се от инхибиране на натрупването от амилоидни протеини, на количество от съединение съгласно претенция 1, инхибиращо натрупването от амилоидни протеини.

16. Метод за изобразяване на амилоидни отлагания, характеризиращ се с това, че се състои от етапите:

- а. Вкарване в пациента на откриваемо количество от белязано съединение с формула I

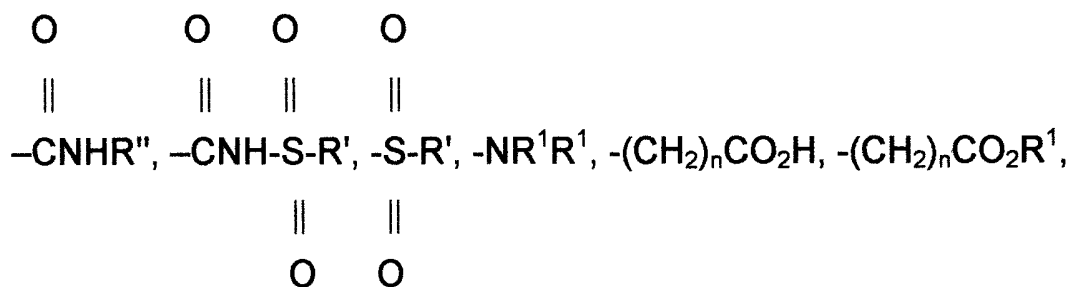


или негови фармацевтично приемливи соли,
където

X е фенил, или заместен фенил;

Y е фенил, заместен фенил, пиридил, или заместен пиридил;

където заместеният фенил и заместеният пиридил може да има от 1 до 4 заместители, всеки един от които се избира независимо от групата, състояща се от $-\text{OC}_1\text{-C}_{12}$ алкил, халоген, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, фенил, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{R}^1$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$,



$-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, тетразол, $-(\text{CH}_2)_n$ -тетразол, декахидроизохинолин, имидазол, $-(\text{CH}_2)_n$ имидазол, $-\text{CH}=\text{CH}$ -тетразол, фенил, или $-\text{CH}=\text{CH}$ -имидазол;

R^1 и R^2 независимо са водород, или $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил;

всеки n независимо е от 0 до 5 включително;

R'' е водород, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, или фенил;

R' е водород, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, $-\text{CF}_3$, или фенил;

b. предоставя се достатъчно време на белязаното съединение да се свърже с амилоидните отлагания; и

c. откриване на белязаното съединение, свързано с амилоидните отлагания.

17. Методът съгласно претенция 16, характеризиращ се с това, че пациентът страда от, или е под съмнение, че страда от болестта на Алцхаймер.

18. Методът съгласно претенция 16, характеризиращ се с това, че белязаното съединение е съединение, белязано с радиоактивен изотоп.

76
09.01.00

19. Методът съгласно претенция 16, характеризира се с това, че белязаното съединение се открива, като се използва MRI.