



УКРАЇНА

(19) UA  
(51) МПК

(11) 128346

(13) C2

A61K 31/4015 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

A61P 25/06 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

|                                                                                                                                    |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки:                                                                                                                 | а 2020 01058                                                                          | Вае Оселар Ненсі Еулаліс Сильвен (BE),<br>Вайт Г. Стивен (US),<br>Сестер Марк Андре (BE),<br>Сід-Нуньєс Хосе Марія (ES),<br>Трабанко-Суарес Андрес Авеліно (ES),<br>Боун Роджер Френсіс (GB)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| (22) Дата подання<br>заявки:                                                                                                       | 20.01.2015                                                                            | (73) Володілець (володільці):<br>ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ,<br>Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium (BE)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| (24) Дата, з якої є<br>чинними права<br>інтелектуальної<br>власності:                                                              | 20.06.2024                                                                            | (74) Представник:<br>Петров Андрій Володимирович                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| (31) Номер попередньої<br>заявки відповідно<br>до Паризької<br>конвенції:                                                          | 61/929,795,<br>14153887.6,<br>14153880.1,<br>14183324.4,<br>14187429.7,<br>62/091,668 | (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:<br>Capacities of metabotropic glutamate modulators in<br>counteracting soman-induced seizures in rats /<br>MYHRER TROND ET AL // EUROPEAN JOURNAL<br>OF PHARMACOLOGY. 07.09.2013. Vol. 718. No. 1.<br>P. 253-260<br>ANTIEPILEPTIC DRUG DISCOVERY: LESSONS<br>FROM THE PAST AND FUTURE CHALLENGES /<br>KLITGAARD H // ACTA NEUROLOGICA<br>SCANDINAVICA. SUPPLEMENTUM,<br>MUNKSGAARD, COPENHAGEN, DK. 2005. Vol.<br>181. P. 68-72<br>Levetiracetam: An improvement of attention and of<br>oral fluency in patients with partial epilepsy /<br>PIAZZINI A ET AL // EPILEPSY RESEARCH,<br>ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM,<br>NL. 01.03.2006. Vol. 68. No. 3. P. 181-188<br>Modifications of Antiepileptic Drugs for Improved<br>Tolerability and Efficiency / Cecilie Johannessen<br>Landmark ET AL // Perspectives in medicinal<br>chemistry. 10.04.2008. P. 21-39<br>Levetiracetam in the Treatment of Neuropathic Pain:<br>Three Case Studies / PRICE M J // CLINICAL<br>JOURNAL OF PAIN, NEW YORK, NY, US. 2004.<br>Vol. 20. No. 1. P. 33-36<br>WO 0139779 A1, 07.06.2001<br>EP 2462990 A1, 13.06.2012<br>WO 2010130424 A1, 18.11.2010<br>WO 2009033704 A1, 19.03.2009<br>WO 9718199 A1, 22.05.1997<br>WO 03104217 A1, 18.12.2003<br>US 2011237602 A1, 29.09.2011<br>WO 2014078568 A1, 22.05.2014 |
| (32) Дата подання<br>попередньої заявки<br>відповідно до<br>Паризької<br>конвенції:                                                | 21.01.2014,<br>04.02.2014,<br>04.02.2014,<br>03.09.2014,<br>02.10.2014,<br>15.12.2014 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (33) Код держави-<br>учасниці Паризької<br>конвенції, до якої<br>подано попередню<br>заявку:                                       | US,<br>EP,<br>EP,<br>EP,<br>EP,<br>US                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (41) Публікація<br>відомостей про<br>заявку:                                                                                       | 25.05.2020, Бюл.№ 10                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (46) Публікація<br>відомостей про<br>державну<br>реєстрацію:                                                                       | 19.06.2024, Бюл.№ 25                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (62) Номер та дата<br>подання<br>попередньої<br>заявки, з якої<br>виділено заявку,<br>позначену кодом<br>(21):                     | ,<br>a201608913, 20.01.2015                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| (72) Винахідник(и):<br>Клейн Браян Д. (US),<br>Лаврейсен Гільде (BE),<br>Пайп Стефан Марія Кристіаан (BE),<br>Тваймен Рой Е. (US), |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

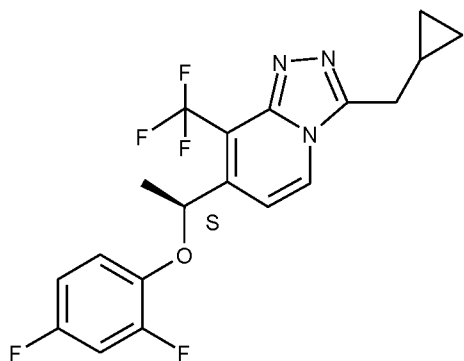
UA 128346 C2

(54) КОМБІНАЦІЇ, ЯКІ МІСТЯТЬ ПОЗИТИВНІ АЛОСТЕРИЧНІ МОДУЛЯТОРИ АБО ОРТОСТЕРИЧНІ АГОНІСТИ МЕТАБОТРОПНОГО ГЛУТАМАТЕРГІЧНОГО РЕЦЕПТОРА 2 ПІДТИПУ, ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

---

(57) Реферат:

Даний винахід стосується комбінації для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю і біполярних та споріднених з ними розладів, яка містить: (a) ліганд білка синаптичних везикул 2A ("SV2A"), вибраний з групи, яка складається з леветирацетаму та бриварацетаму; і (b) сполуку формули (I-B)



або її фармацевтично прийнятну сіль.

Даний винахід стосується комбінацій, що містять позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2") або його фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, і ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A").

Терміном "епілепсія" описують стан, під час якого у індивідуума виникають епілептичні напади, що рецидивують, викликані хронічним обумовлюючим процесом. Епілепсія відноситься скоріше до клінічного симптому ніж до окремої нозологічної форми, оскільки існує велика кількість форм і причин епілепсії. При використанні визначення епілепсії як двох або більше неспровокованих епілептичних нападів частота виникнення епілепсії оцінюється приблизно в 0,3-0,5 відсотка у різних популяціях в усьому світі, при цьому поширеність епілепсії оцінюють в 5-10 людей на 1000.

Важливою стадією в оцінці і веденні пацієнта з епілептичним нападом є визначення типу епілептичного нападу, що виник. Основна характеристика, яка дозволяє відрізнити різні категорії епілептичних нападів, полягає у визначенні того, чи є судомна активність парціальною (синонім з фокальною) або генералізованою.

До парціальних нападів відносяться такі напади, під час яких судомна активність обмежена окремими ділянками кори головного мозку. Якщо свідомість повністю зберігається протягом епілептичного нападу, то клінічні прояви розглядають як відносно прості, а епілептичний напад називають простим парціальним нападом. Якщо свідомість порушується, то епілептичний напад називають складним парціальним нападом. Важлива додаткова підгрупа включає епілептичні напади, які починаються з парціального нападу, а потім дифузно поширюються по всій корі головного мозку, що відомі як парціальні напади із вторинною генералізацією.

Генералізовані епілептичні напади одночасно залучають дифузні ділянки мозку білатерально-симетричним чином. Абсанс або малі епілептичні напади характеризуються раптовими короткочасними провалами у свідомості без втрати контролю над положенням тіла. Атипові абсансні напади зазвичай включають провал у свідомості більшої тривалості, менш раптовий початок і припинення й більш виражені моторні ознаки, які можуть включати фокальні ознаки або ознаки, що латералізуються. Генералізовані тоніко-клонічні або великі епілептичні напади, які представляють собою основний тип генералізованих епілептичних нападів, характеризуються раптовим початком без провісників. У початковій фазі епілептичного нападу зазвичай спостерігається тонічне скорочення м'язів, порушення дихання, значне підсилення симпатичного тону, що призводить до збільшення частоти серцевих скорочень, кров'яного тиску і розмірів зіниць. Через 10-20 сек. тонічна фаза епілептичного нападу зазвичай переходить в клонічну фазу, яка складається з чергування періодів міорелаксації і тонічного скорочення м'язів. Періоди релаксації поступово збільшуються до кінця іктальної фази, яка зазвичай триває не довше 1 хв. Постіктальна фаза характеризується несприйнятливостю, м'язовою млявістю і надмірною салівацією, що може викликати хрипле дихання і часткове порушення прохідності дихальних шляхів. Атонічні напади характеризуються рапдовою втратою тону постуральних м'язів, що триває 1-2 сек. Свідомість короткочасно порушується, але після нападу зазвичай не спостерігається сплутаність свідомості. Міоклонічні напади характеризуються раптовим і короткочасним скороченням м'язів, яке може залучати частину тіла або тіло повністю.

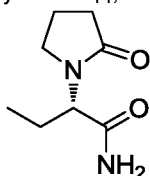
Білок синаптичних везикул 2A ("SV2A") був визначений як протисудомна мішень з широким спектром в моделях парціальної та генералізованої епілепсії. Результати досліджень, що здійснювали на тваринних моделях і тканинах людини, свідчать про те, що зміни експресії SV2A залучені у розвиток епілепсії (для огляду див., наприклад: (a) Mendoza-Torreblanca et al. "Synaptic vesicle protein 2A: basic facts and role in synaptic function" European Journal of Neuroscience 2013, pp. 1-11; (b) Kaminski RM, et al. "Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs". В: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, et al., editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. Доступний на <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/>).

Точна роль SV2A залишається нез'ясованою, але результати досліджень свідчать про те, що зміни експресії SV2A порушують синаптичну функцію (Nowack et al. "Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A" PLoS One 2011, Volume 6 (12), e29560). Також передбачається, що SV2A є ключовим в екзоцитозі і залучений в передачу нервових імпульсів (Crowder et al. "Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A)" Proc Nat Acad Sci USA 1999, 96, pp. 15268-15273), а результати досліджень на нокаутних мишах свідчать про те, що нестача SV2A призводить в результаті до дисбалансу між глутаматергічною та GABA-ергічною передачею нервового імпульсу (Venkatesan et al. "Altered

balance between excitatory and inhibitory inputs onto CA pyramidal neurons from SV2A-deficient but not SV2B-deficient mice" J Neurosci Res 2012, 90, pp. 2317-2327). Знижена експресія SV2A може бути причиною судомної активності та може бути залучена в прогресування епілепсії (van Vliet et al. "Decreased expression of synaptic vesicle protein 2A, the binding site for levetiracetam, during epileptogenesis and chronic epilepsy" Epilepsia 2009, 50, pp. 422-433; Feng et al. "Down-regulation of synaptic vesicle protein 2A in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy" J Mol Neurosci 2009, 39, pp. 354-359; Toering et al. "Expression patterns of synaptic vesicle protein 2A in focal cortical dysplasia and TSC-cortical tubers" Epilepsia 2009, 50, pp. 1409-1418), а також епілептогенез у пацієнтів з пухлинами головного мозку (de Groot et al. "Expression of synaptic vesicle protein 2A in epilepsy-associated brain tumors and in the peritumoral cortex" Neuro-Oncology 2010, 12, pp. 265-273).

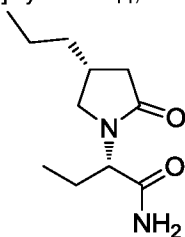
Ліганди SV2A включають леветирацетам (Lynch et al. "The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2004, Vol. 101, pp. 9861-9866), бриварацетам і селетрацетам (Kaminski RM, et al. "Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs". B: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, et al., editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. Доступні на <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/>; Nowack et al. "Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A" PLoSone December 2011, Vol. 6(12), e29560).

Леветирацетам, (-)-(S)- $\alpha$ -етил-2-оксо-1-піролідинацетамід або (S)-2-(2-оксопіролідин-1-іл)бутанамід,



являє собою протиепілептичний лікарський засіб. Леветирацетам не продемонстрував активність в традиційних моделях гострих форм (тести епілептичних нападів з максимальним електрошоком і пентилентетразолом), але було виявлено, що він є ефективним у моделях хронічної епілепсії та в генетичних моделях генералізованої епілепсії. Була продемонстрована висока надійність у порівнянні з іншими протиепілептичними лікарськими засобами (Klitgaard "Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs" Epilepsia 2001, 42 (Supplement 4), pp. 13-18). Його випускають під торговою маркою Керпра®, він доступний у формі таблеток, у формі перорального розчину та у формі концентрату, з якого готують розчин для інфузій. Керпра® був затверджений в Європі для монотерапії у пацієнтів віком від 16 років із вперше діагностованою епілепсією, при лікуванні парціальних нападів (судом) із вторинною генералізацією або без неї та в якості додаткової терапії для застосування з іншими протиепілептичними лікарськими засобами під час лікування парціальних нападів з генералізацією або без неї у пацієнтів віком від 1 місяця; міоклонічних нападів у пацієнтів віком від 12 років з ювенільною міоклонічною епілепсією; і первинних генералізованих тоніко-клонічних нападів у пацієнтів віком від 12 років з ідіопатичною генералізованою епілепсією ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)). Керпра® також був затверджений у США в якості додаткової терапії для лікування парціальних нападів у пацієнтів віком від 1 місяця; міоклонічних нападів у пацієнтів віком 12 років і старше з ювенільною міоклонічною епілепсією; і первинних генералізованих тоніко-клонічних нападів у пацієнтів віком 6 років і старше з ідіопатичною генералізованою епілепсією. Керпра XR®, доступний у формі таблеток із уповільненим вивільненням, був затверджений в США для додаткового лікування парціальних нападів у пацієнтів віком 16 років і старше з епілепсією (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>).

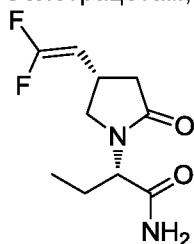
Бриварацетам, 4-н-пропільний аналог леветирацетаму, (2S)-2-[(4R)-оксо-4-пропіл-піролідин-1-іл]бутанамід,



проходить стадію клінічних випробувань і досліджується як монотерапія при парціальних нападах і постгерпетичній невралгії, а також як додаткова терапія при рефракторних

парціальних нападах, хворобі Унферріхта-Лундборга у підлітків і дорослих і при фотогенній епілепсії ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)).

Селетрацетам, (2S)-2-[(4S)-4-(2,2-дифторвініл)-2-оксо-піролідин-1-іл]бутанамід,



був протестований у клінічних дослідженнях.

5       Способи одержання даних трьох сполук відомі з літератури. Наприклад, способи одержання леветирацетаму розкриті, наприклад, в патентних документах EP 0162036 та в GB 2225322. Спосіб одержання бриварацетаму розкритий, наприклад, в патентному документі WO 01/62726. Спосіб одержання селетрацетаму відомий, наприклад, з патентного документу WO2005/121082. Альтернативні способи одержання даних трьох сполук розкриті в патентному документі EP1806339.

10       Була встановлена доцільність застосування протиепілептичних лікарських засобів при неврологічних і психічних розладах, включаючи невропатичний біль, мігрень, есенціальний тремор, і при тривожному стані, шизофренії та біполярному розладі (Landmarck "Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders. Relations between mechanisms of action and clinical efficacy" CNS  
15       Drugs 2008, Vol. 22(1), pp. 27-47; Calabresi et al. "Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms" Trends in Pharmacological Sciences 2007, Vol. 28(4), pp. 188-195; Rogawski and Löscher "The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions" Nat Med 2004, Vol. 10, pp. 685-692).

20       Було встановлено, що леветирацетам є ефективним або є потенційно ефективним при широкому спектрі психоневрологічних розладів, включаючи афективні розлади (Muralidharan and Bhagwagar "Potential of levetiracetam in mood disorders: a preliminary review" CNS Drugs 2006, Vol. 20, pp. 969-979; Mula et al. "The role of anticonvulsant drugs in anxiety disorders: a critical review of the evidence" J Clin Psychopharmacol 2007, Vol. 27, pp. 263-272), тривожні неврози (Kinrys et al. "Levetiracetam as adjunctive therapy for refractory anxiety disorders" J Clin Psychiatry  
25       2007, Vol. 68, pp. 1010-1013; Zhang et al. "Levetiracetam in social phobia: a placebo controlled pilot study" J Psychopharmacol 2005, Vol. 19, pp. 551-553; Kinrys et al. "Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder" J Clin Psychiatry 2006, Vol. 67, pp. 211-214), біль (Enggaard et al. "Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models" Eur J Pain 2006, Vol. 10, pp. 193-198; Duntzman "Levetiracetam as an adjunctive analgesic in neoplastic plexopathies: case series and commentary" J Pain Palliative Care Pharmacother 2005, Vol. 19, pp. 35-43; Price  
30       "Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies" Clin J Pain 2004, Vol. 20, pp. 33-36), рухові розлади (Bushara et al. "The effect of levetiracetam on essential tremor" Neurology 2005, Vol. 64, pp. 1078-1080; McGavin et al. "Levetiracetam as a treatment for tardive dyskinesia: a case report" Neurology 2003, Vol. 61, pp. 419; Woods et al. "Effects of levetiracetam on tardive  
35       dyskinesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study" J Clin Psychiatry 2008, Vol. 69, pp. 546-554; Zivkovic et al. "Treatment of tardive dyskinesia with levetiracetam in a transplant patient" Acta Neurol Scand 2008, Vol. 117, pp. 351-353; Striano et al. "Dramatic response to levetiracetam in post-ischaemic Holmes' tremor" J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007, Vol. 78, pp. 438-439), а також передбачається, що він може демонструвати потенційно корисні ефекти на когнітивні функції (Piazzini et al. "Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial  
40       epilepsy" Epilepsy Research 2006, Vol. 68, pp. 181-188; de Groot et al. "Levetiracetam improves verbal memory in high-grade glioma patients" Neuro-oncology 2013, Vol. 15(2), pp. 216-223; Bakker et al. "Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment" Neuron 2012, Vol. 74, pp. 467-474; для огляду: Eddy et al. "The cognitive impact of antiepileptic drugs" Ther Adv Neurol Disord 2011, Vol. 4(6), pp. 385-407 а також посилання процитовані там; Wheless "Levetiracetam in the treatment of childhood epilepsy" Neuropsychiatric Disease and Treatment 2007, Vol. 3(4), pp. 409-421) та поведінкові симптоми деменції (Dolder and Nealy "The efficacy and safety of newer anticonvulsants in patients with dementia" Drugs Aging 2012, Vol. 29(8), pp. 627-637). Дані отримані на тваринах та деякі результати попередніх клінічних  
50       випробувань свідчать про те, що леветирацетам може мати потенціал для стримування посттравматичної епілепсії, такої як епілепсія, спровокована епілептичним статусом, травматичним пошкодженням головного мозку та ішемічним інсультом, і, очевидно, спричиняє нейпропротективні ефекти. Потенціал леветирацетаму для ослаблення епілептогенезу або

когнітивної дисфункції необхідно з'ясувати за допомогою остаточних клінічних випробувань і досліджень на тваринах (для огляду: Löscher and Brandt "Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research" *Pharmacol Rev* 2010, Vol. 62, 668-700; Shetty "Prospects of levetiracetam as a neuroprotective drug against status epilepticus, traumatic brain injury and stroke" *Front. Neur.* 2013, 4:172. Doi: 10.3389/fneur.2013.00172), оскільки він виявив протиепілептогенну активність в кіндлінг моделі у мишей та щурів. Також було показано, що леветирацетам пригнічує вивільнення глутамату (Lee et al. "Levetiracetam inhibits glutamate transmission through presynaptic P/Q-type calcium channels on the granule cells of the dentate gyrus" *British Journal of Pharmacology* 2009, Vol. 158, pp. 1753-1762).

Було виявлено, що селетрацетам і бриварацетам зменшують ступінь тяжкості дистонії в моделі на хом'якові, мутантному за  $dt^{sz}$ , і можуть бути корисними для деяких пацієнтів, що страждають на дискінетичний і дистонічний розлади руху (Hamann et al. "Brivaracetam and seletracetam, two new SV2A ligands, improve paroxysmal dystonia in the  $dt^{sz}$  mutant hamster" *European Journal of Pharmacology* 2008, Vol. 601, pp. 99-102).

Нещодавно були виявлені позитивні алостеричні модулятори mGluR2 як перспективні нові терапевтичні підходи для лікування ряду захворювань ЦНС, включаючи епілепсію, тому деякі РАМ mGluR2 в наш час проходять клінічні випробування щодо лікування шизофренії і депресії, пов'язаних з почуттям неповноцінності ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), див., наприклад: JNJ-40411813/ADX71149 by Addex Therapeutics and Janssen Pharmaceuticals, Inc.). Початкове припущення, що лікарські засоби, які ослаблюють глутаматергічну передачу нервового імпульсу, можуть бути ефективними для лікування епілепсії, було висунуто по результатам ранніх доклінічних досліджень зі змішаними агоністами рецепторів mGlu2/3 (Moldrich et al. "Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy" *Eur J Pharmacol.* 2003, Vol. 476, pp. 3-16). LY379268 і LY389795, два агоністи рецепторів mGlu2/3, виявились неефективними при блокуванні MES епілептичних нападів аж до доз, що викликають рухову недостатність, але були виявлені як ефективні в 6 Гц моделі із дозозалежним характером (Barton et al. "Comparison of the effect of glutamate receptor modulators in the 6 Hz and maximal electroshock seizure models" *Epilepsy Research* 2003, Vol. 56, pp. 17-26). Тривале застосування агоністу mGlu2/3 парадоксально індукуює судомну активність під час довгострокових токсикологічних досліджень (Dunayevich et al. "Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder" *Neuropsychopharmacology.* 2008, Vol. 33(7), pp. 1603-10). Цей парадоксальний ефект може бути пов'язаний зі змінами чутливості рецепторної системи (тахіфілаксія), індукованими агоністом, але все ж таки його не відзначали в доклінічних дослідженнях епілепсії на модельних об'єктах. Навпаки, позитивні алостеричні модулятори модулюють безперервну передачу нервового імпульсу, але не спричиняють безпосередньої стимулюючої дії із зниженням таким чином ризику розвитку тахіфілаксії.

Перед судомною активністю за результатами вимірювання відзначають підвищення рівнів позаклітинного глутамату у гіпокампі людини, і це підвищення зберігається протягом епілептогенної активності (During and Spencer "Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain" *Lancet* 1993, Vol. 341(8861), pp. 1607-10), таким чином, це надає підтвердження ідеї, що зниження рівнів глутамату може спричинити сприятливий ефект при лікуванні епілепсії. Фактично, під час судомної активності рівні глутамату підвищуються до потенційно нейротоксичних рівнів. Судомна активність призводить в результаті до прогресуючого структурного ураження головного мозку у людини, яке індукуює додаткові відхилення в метаболізмі глутамату (Petroff et al. "Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus" *Epilepsia* 2002, Vol. 43(7), pp. 703-10). Таким чином, передбачають, що позитивний алостеричний модулятор mGluR2 або ортостеричний агоніст mGluR2 можуть захищати нейрони від пошкодження, індукованого епілептичним нападом.

В патентних документах WO2009/033704 та WO2010/130424 розкриті позитивні алостеричні модулятори mGluR2, їх застосування та способи синтезу даних сполук. В патентних документах WO1997/18199 та WO2003/104217 розкриті сполуки-модулятори збуджуючих амінокислотних рецепторів, для яких пізніше була показана ортостерична активність агоніста mGlu2/3 (див., наприклад, Rorick-Kehn et al. (2007) *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* Vol. 321, No. 1, pp. 308-317), додатково в науковій і патентній літературі розкриті додаткові приклади сполук, які мають ортостеричну активність агоніста mGlu2/3, а в патентному документі WO2008/150233 розкриті сполуки з алостеричною активністю активатора mGluR2.

Доступні в наш час протиепілептичні засоби впливають не тільки на глутаматергічну передачу нервового імпульсу. Їх механізм дії зазвичай пояснюють зміною балансу між збуджувальною (опосередкованою глутаматом) і гальмівною (опосередкованою GABA)

передачею нервового імпульсу (Johannessen Landmark "Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders: relations between mechanisms of action and clinical efficacy" CNS Drugs 2008, Vol. 22(1), pp. 27-47).

Суттєвим обмежувальним фактором у застосуванні лігандів SV2A є переносимість та профіль побічних ефектів. Наприклад, ефективна доза леветирацетаму для парціальних нападів становить 1000 мг, 2000 мг і 3000 мг, яку вводять двічі на добу. Побічні ефекти, відзначені для леветирацетаму, включають агресивну або тривожну поведінку, тривожність, зміну особистості, лихоманку, кашель або хрипоту, плач, деперсоналізацію, діарею, ксеростомію, ейфорію, гарячку, загальне відчуття дискомфорту або хворобливості, головний біль, гіпервентиляцію, нерегулярне серцебиття, дратівливість, біль в суглобах, зниження апетиту, поперекові болі або болі в боці, депресію, ломоту і болі в м'язах, нудоту, болісне або утруднене сечовиділення, параною, гостре реагування або надлишкову емоційність, швидку зміну настрою, занепокоєння, тремтячий параліч, тремор, нестачу повітря, сонливість або незвичну млявість, біль у горлі, закладений ніс або нежить, пітливість, порушення сну, незвичну втомлюваність або слабкість і блювоту. Таким чином, як і раніше існує необхідність в забезпеченні ефективного лікування низькою ефективною дозою леветирацетаму і з більш сприятливим профілем побічних ефектів для лікування епілепсії і пов'язаних з нею розладів не лише для дорослих, але також і для пацієнтів дитячого віку.

#### КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Фігура 1. Дозозалежний ефект для стимульованого 6 Гц, 44 мА, визначення ED<sub>50</sub> для спол. № 2 і LEV окремо і в комбінації.

Фігура 2. Ізоболографічний аналіз для комбінації спол. № 1 з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією 6 Гц (44 мА). Вихідні значення ED<sub>50</sub> (показані нижче) визначали як для спол. № 1, так і для LEV (точки на графіку по осях x і y; заштриховані ромби). Теоретична лінія адитивності з'єднає розраховані значення ED<sub>50</sub> для двох сполук (суцільна чорна лінія). На графік нанесені теоретичні ED<sub>50</sub> (+ SEM) для трьох комбінацій з фіксованими співвідношеннями доз (LEV: спол. № 1): 1:3 - заштриховані квадрати/суцільна чорна лінія, 1:1 - заштриховані, спрямовані вгору трикутники/суцільна чорна лінія і 3:1 - заштриховані, направлені вниз трикутники/суцільна чорна лінія. Дози для експериментального лікування з самого початку були похідними теоретичних значень та їх коригували згідно до спостережуваних ефектів. Також показані експериментально встановлені значення ED<sub>50</sub> (+ SEM) для кожної комбінації з фіксованим співвідношенням доз: 1:3' - незаштриховані квадрати/пунктирна лінія, 1:1' - незаштриховані, спрямовані вгору трикутники/пунктирна лінія та 3:1' - незаштриховані, спрямовані вниз трикутники/пунктирна лінія. Порівняння між теоретичними і експериментально встановленими значеннями ED<sub>50</sub> проводили за допомогою t-критерію (\*\*\*P<0,001). N=8 на групу. На фігурі 2 співвідношення LEV і спол. № 1 відображено наступним чином:

| співвідношення LEV: спол. № 1                                                                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ■                                                                                                                                                  | 1:3  |
| ▲                                                                                                                                                  | 1:1  |
| ▼                                                                                                                                                  | 3:1  |
| --□--                                                                                                                                              | 1:3' |
| --△--                                                                                                                                              | 1:1' |
| --▽--                                                                                                                                              | 3:1' |
| ED <sub>50</sub> (LEV) = 345 мг/кг (211-485) (внутрішньочеревинно, i.p.)<br>ED <sub>50</sub> (спол. № 1) = 10,2 мг/кг (3,1-12,4) (підшкірно, s.c.) |      |

Фігура 3. Дослідження комбінацій для спол. № 25-а з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА). При дозі 10 мг/кг, s.c., спол. № 25-а підвищує ефективність LEV, що призводить до приблизно 70-кратного зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок.

Фігура 4. Дослідження комбінацій для спол. № 2-а з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА). При дозі 10 мг/кг, s.c., спол. № 2-а підвищує ефективність LEV, що призводить до приблизно 35-кратного зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок.

Фігура 5. Дослідження комбінацій для спол. № 6-б з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА). При дозі 10 мг/кг, p.o., спол. № 6-б підвищує ефективність LEV, що призводить до приблизно до 100-кратного зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок.

Фігура 6. Дослідження комбінацій для LY-404039 з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА). При дозі 5 мг/кг, s.c., LY-404039 підвищує ефективність LEV, що

призводить приблизно до 27-кратного зсуву  $ED_{50}$ . Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок.

#### ОПИС ВИНАХОДУ

Даний винахід стосується комбінації, яка містить

- 5 (a) ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і  
 (b) сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

- 10 В конкретному варіанті здійснення даний винахід, описаний в даному документі, стосується фармацевтичної комбінації, зокрема фармацевтичного комбінованого продукту, який містить

(a) ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і

- (b) сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват; і

(c) щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується описуваної в даному документі комбінації для застосування як лікарського препарату.

- 20 Додатковий варіант здійснення за даним винаходом стосується застосування описуваної в даному документі комбінації для виробництва лікарського препарату або фармацевтичного продукту для лікування або попередження епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю та біполярних і пов'язаних з ними розладів.

- 25 Додатковий варіант здійснення за даним винаходом стосується застосування описуваної в даному документі комбінації для виробництва лікарського препарату або фармацевтичного продукту для нейропротекції.

Додатковий варіант здійснення за даним винаходом стосується застосування описуваної в даному документі комбінації для виробництва лікарського препарату або фармацевтичного продукту для попередження епілептогенезу.

- 30 Додатковий варіант здійснення стосується лікування або попередження у суб'єкта епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю та біполярних і пов'язаних з ними розладів, яке передбачає одночасне або послідовне введення суб'єкту, який потребує цього, ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул ("SV2A"); і сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату, або сполуки, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату в кількостях, що будуть терапевтично ефективними при спільному введенні ліганду SV2A і сполуки mGluR2.

- 40 Додатковий варіант здійснення стосується описуваної в даному документі комбінації для нейропротекції; або описуваної в даному документі комбінації для застосування в нейропротекції.

- 45 Додатковий варіант здійснення стосується описуваної в даному документі комбінації для попередження епілептогенезу; або описуваної в даному документі комбінації для застосування в попередженні епілептогенезу.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується способу лікування або попередження у пацієнтів з епілепсією і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і пов'язаних з ними розладів, який передбачає введення комбінації з фіксованою дозою

- 50 (a) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і

(b) сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату, або сполуки, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату

- 55 в кількостях, які можуть бути терапевтично ефективними при спільному введенні ліганду SV2A і сполуки mGluR2.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується способу нейропротекції за допомогою комбінації, визначеної у даному документі.

- 60 В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується способу проти епілептогенезу за допомогою комбінації, визначеної у даному документі.

Додатковий варіант здійснення стосується способу лікування або попередження епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю; біполярних і пов'язаних з ними розладів, при цьому зазначений спосіб передбачає введення терапевтично ефективної кількості комбінації або комбінованого продукту, що містять

- 5 (a) ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і
- (b) сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват,

10 суб'єкту, який потребує цього, такому як теплокровна тварина, зокрема людині.  
Додатковий варіант здійснення стосується способу нейропротекції, при цьому вказаний спосіб передбачає введення терапевтично ефективної кількості комбінації або комбінованого продукту, які містять

- 15 (a) ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і
- (b) сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват,

20 суб'єкту, який потребує цього, такому як теплокровна тварина, зокрема людині.  
Додатковий варіант здійснення стосується способу проти епілептогенезу, при цьому вказаний спосіб передбачає введення терапевтично ефективної кількості комбінації або комбінованого продукту, які містять

- 25 (a) ліганд, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і
- (b) сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват,

30 суб'єкту, який потребує цього, такому як теплокровна тварина, зокрема людині.  
В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується фармацевтичного продукту або комерційної упаковки, які містять комбінацію згідно з описуванням в даному документі даним винаходом, зокрема разом з інструкціями, для одночасного, окремого або послідовного її застосування в лікуванні або попередженні епілепсії і пов'язаних з нею розладів; невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і пов'язаних з ними розладів.

35 В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується фармацевтичного продукту або комерційної упаковки, які містять комбінацію згідно з описуванням в даному документі даним винаходом, зокрема разом з інструкціями, для одночасного, окремого або послідовного її застосування в нейропротекції.

40 В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується фармацевтичного продукту або комерційної упаковки, які містять комбінацію згідно з описуванням в даному документі даним винаходом, зокрема разом з інструкціями, для одночасного, окремого або послідовного її застосування проти епілептогенезу.

45 В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується комбінації, що містить кількість, яка в сукупності є терапевтично ефективною щодо епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і пов'язаних з ними розладів,

- (a) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і
- (b) сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується комбінації, яка містить кількість, що в сукупності є терапевтично ефективною як нейропротектор,

- 55 (a) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і
- (b) сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується комбінації, яка містить кількість, що в сукупності є терапевтично ефективною в попередженні епілептогенезу,

(a) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і

(b) сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, або сполуку, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват, і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.

В додатковому варіанті здійснення даний винахід стосується застосування

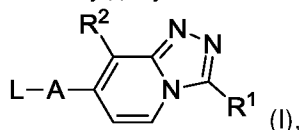
(a) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); і

(b) сполуки, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату, або сполуки, яка являє собою ортостеричний агоніст метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу, або її фармацевтично прийнятної солі або сольвату

для одержання комбінованого продукту згідно з даним винаходом.

Компоненти (b) комбінації за даним винаходом в цілому називають в даному документі "сполуками mGluR2", або "PAM mGluR2/сполуками-агоністами mGluR2", або "позитивним алостеричним модулятором mGluR2/сполукою-ортостеричним агоністом mGluR2", що означає, що сполуки загалом мають активність щодо метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу і, зокрема, вибрані з позитивних алостеричних модуляторів (PAM) метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу та ортостеричних агоністів метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу. Спеціаліст в даній галузі буде обізнаний про високу гомологію mGluR2 і mGluR3, у зв'язку з чим деякі ортостеричні агоністи mGluR2 також проявляють активність, яка аналогічна активності ортостеричних агоністів mGluR3. Так справа полягає у випадку з, наприклад, (-)-(1R, 4S, 5S, 6S)-4-аміно-2-сульфонілбіцикло[3.1.0]-гексан-4,6-дикарбонової кислоти (також відомої як LY-404,039 [CAS 635318-11-5]) з  $K_i=149$  нМ (рецептор mGlu2) і  $K_i=92$  нМ (рецептор mGlu3), яка характеризується 100-кратною селективністю до mGlu2 і mGlu3 у порівнянні з mGlu4a, -6, -7a та -8a, при цьому в неї відсутня активність щодо mGlu1a і mGlu5a (Rorick-Kehn et al. (2007) The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol. 321, No. 1, pp. 308-317). Таким чином, термін "сполуки mGluR2", або "PAM mGluR2/сполуки-агоністи mGluR2", або "позитивний алостеричний модулятор mGluR2/сполука-ортостеричний агоніст mGluR2" не виключають сполуку, яка проявляє деяку додаткову другорядну активність in vitro або in vivo.

Сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом, зокрема, вибрані з розкритих у патентному документі WO2010/130424. Конкретну підгрупу вказаних сполук, розкритих в патентному документі WO2010/130424, можна охарактеризувати наступною формулою (I):



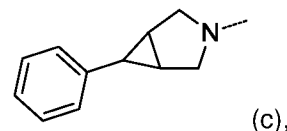
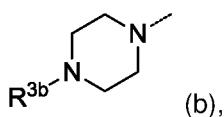
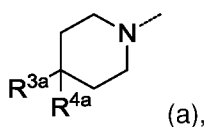
або їх стереоізомерну форму, де

R<sup>1</sup> вибрано з групи, що складається з (C<sub>3-7</sub>циклоалкіл)C<sub>1-3</sub>алкілу-, моно- або полігалоген-C<sub>1-4</sub>алкілу та (C<sub>1-4</sub>алкіл)-O-(C<sub>1-4</sub>алкілу);

R<sup>2</sup> являє собою галоген або полігалоген-C<sub>1-4</sub>алкіл;

A являє собою ковалентний зв'язок або -CH<sub>2</sub>-;

L вибрано з радикалів (a), (b) і (c):

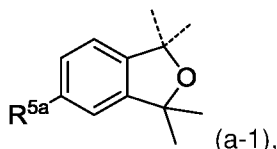


де

R<sup>3a</sup> вибрано з незаміщеного фенілу або фенілу, заміщеного 1 або 2 галогеновими замісниками;

R<sup>4a</sup> вибрано з групи водню, C<sub>1-3</sub>алкілу і галогену;

або R<sup>3a</sup>-C-R<sup>4a</sup> разом являють собою радикал формули (a-1),



де  $R^{5a}$  є воднем або галогеном;

$R^{3b}$  вибрано з групи з фенілу, заміщеного 1 або 2 галогеновими замісниками, піридинілу, заміщеного 1 або 2 галогеновими замісниками, незаміщеного піримідинілу і піримідинілу, заміщеного 1 або 2  $C_{1-3}$ -алкілокси замісниками;

або їх фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

Таким чином, згідно з конкретним варіантом здійснення за даним винаходом сполука, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), являє собою сполуку формули (I), яку визначено в даному документі.

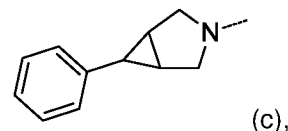
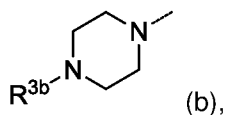
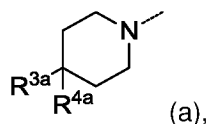
В конкретному варіанті здійснення сполуки формули (I) визначені в даному документі, де

$R^1$  вибрано з групи, яка складається з циклопропілметилу-, 2,2,2-трифторетилу та  $CH_3-O-CH_2-$ ;

$R^2$  являє собою хлор або  $CF_3$ ;

A являє собою ковалентний зв'язок або  $-CH_2-$ ;

L вибрано з радикалів (a), (b) і (c):

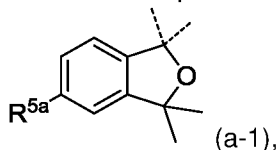


де

$R^{3a}$  вибрано з незаміщеного фенілу або фенілу, заміщеного 1 або 2 фтор-замісниками;

$R^{4a}$  вибрано з групи водню, метилу і фтору;

або  $R^{3a}-C-R^{4a}$  разом являють собою радикал формули (a-1),



де  $R^{5a}$  являє собою водень або фтор;

$R^{3b}$  вибрано з групи фенілу, заміщеного 1 або 2 фтор-замісниками, піридинілу, заміщеного 1 або 2 фтор-замісниками, незаміщеного піримідинілу і піримідинілу, заміщеного 1 або 2 метокси-замісниками;

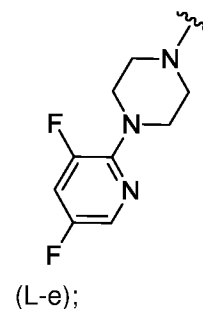
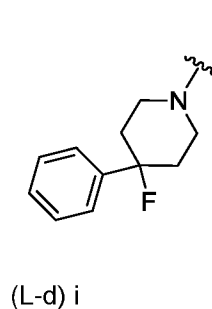
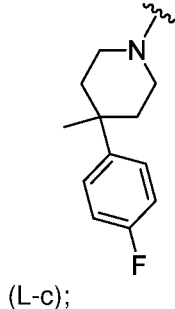
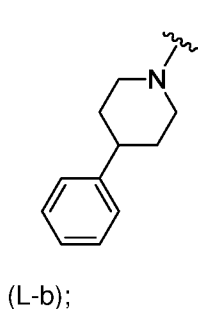
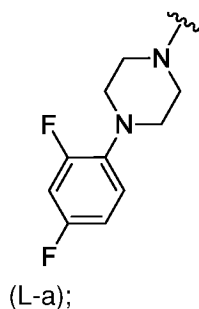
або їх фармацевтично прийнятна сіль або сольват.

В конкретному варіанті здійснення сполуки формули (I) визначені в даному документі, де

(i) якщо A являє собою  $CH_2$ ; а  $R^2$  являє собою трифторметил; то

$R^1$  являє собою циклопропілметил-; і

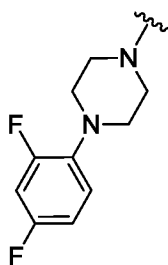
L вибрано з



(ii) якщо A являє собою  $CH_2$ ; а  $R^2$  являє собою хлор; то

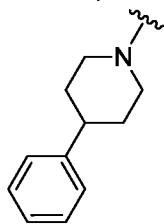
$R^1$  являє собою циклопропілметил-; і

L являє собою

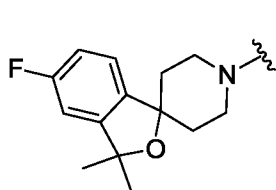


(L-a);

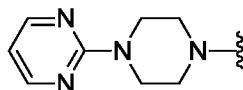
(iii) якщо А являє собою ковалентний зв'язок; а  $R^2$  являє собою трифторметил; то  $R^1$  являє собою циклопропілметил; і L вибрано з



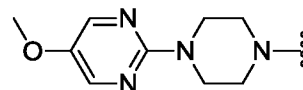
(L-b);



(L-e);



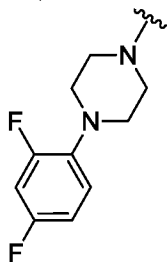
(L-f) і



(L-g);

5

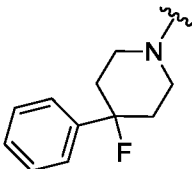
(iv) якщо А являє собою ковалентний зв'язок; а  $R^2$  являє собою Cl; то (iv-a)  $R^1$  являє собою циклопропілметил, а L являє собою



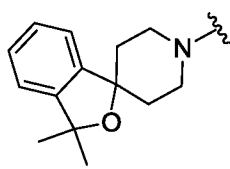
(L-a);

або

(iv-b)  $R^1$  являє собою 2,2,2-трифторетил, і L вибрано з

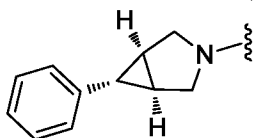


(L-d) і



(L-h);

(v) якщо А являє собою  $CH_2$ , а  $R^1$  являє собою  $-CH_2-O-CH_3$ ; то  $R^2$  являє собою  $-CF_3$ , а L являє собою



рац-(2а, 3а,

3аа)

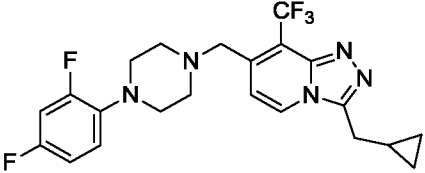
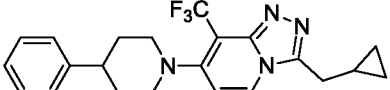
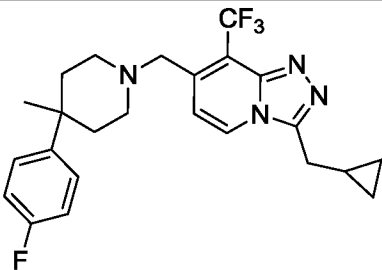
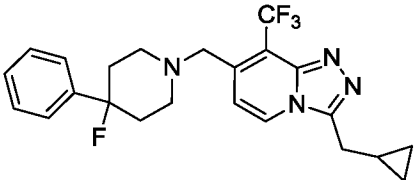
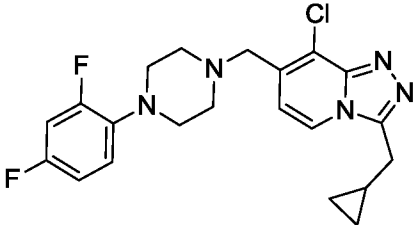
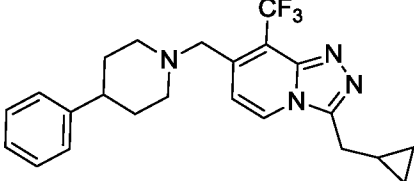
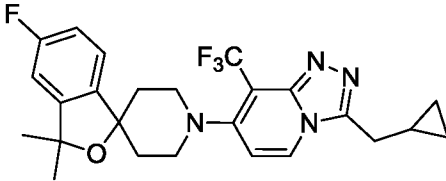
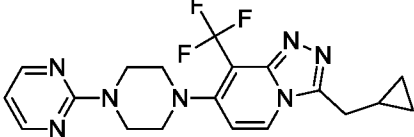
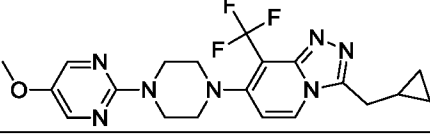
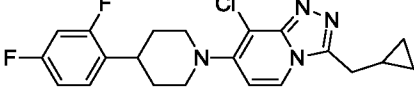
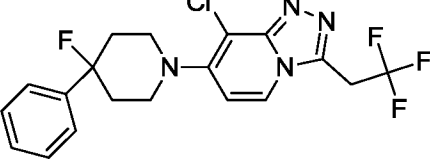
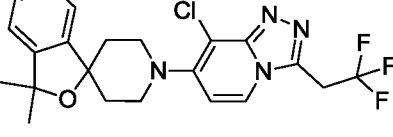
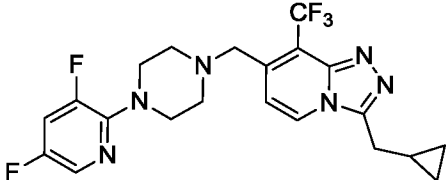
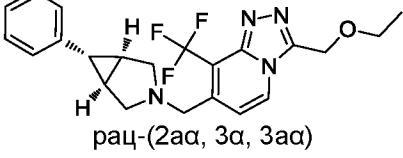
(L-i);

10

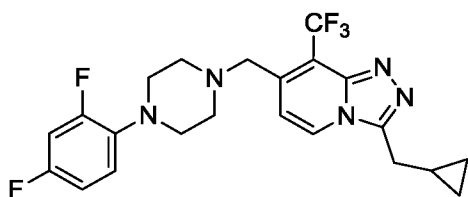
або їх фармацевтично прийнятна сіль або сольват.

Сполуки формули (I) розкриті в патентному документі WO2010/130424 і можуть бути одержані згідно з описуваними в даному документі способами, які включено в даний документ за допомогою посилання у повному їх обсязі.

Конкретні сполуки формули (I) включають

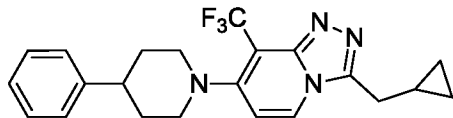
|                                                                                     |                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                        |
| спол. № 1; або її хлористоводневу сіль (спол. № 1a)                                 | спол. № 2; або її хлористоводневу сіль (.HCl) (спол. № 2a)                                               |
|    |                        |
| спол. № 3                                                                           | спол. № 4                                                                                                |
|    |                        |
| спол. № 5                                                                           | спол. № 6; або її хлористоводневу сіль (спол. № 6a)                                                      |
|  |                      |
| спол. № 7                                                                           | спол. № 8                                                                                                |
|  |                      |
| спол. № 9                                                                           | спол. № 10                                                                                               |
|  |                      |
| спол. № 11                                                                          | спол. № 12                                                                                               |
|  | <br>рац-(2α, 3α, 3α) |
| спол. № 13                                                                          | спол. № 14                                                                                               |

У варіанті здійснення за даним винаходом сполука формули (I) являє собою



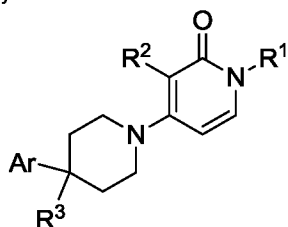
спол. № 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, переважно її хлористоводневу сіль.

У додатковому варіанті здійснення за даним винаходом сполука формули (I) являє собою



спол. № 2 або її фармацевтично прийнятну сіль, переважно її хлористоводневу сіль (HCl).

Сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом, також, зокрема, вибрані із сполук, розкритих у патентному документі WO2009/033704. Зазначені сполуки, розкриті в патентному документі WO2009/033704, можна позначити наступною формулою (I-A):



(I-A),

та їх стереохімічно ізомерні форми, де

R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>алкіл або C<sub>1-3</sub>залкіл, заміщений C<sub>3-7</sub>циклоалкілом, фенілом або фенілом, заміщеним галогеном, трифторметилом або трифторметокси;

R<sup>2</sup> являє собою галоген, трифторметил, C<sub>1-3</sub>залкіл або циклопропіл;

R<sup>3</sup> являє собою водень, фтор, гідроксил, гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкіл, гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкілокси, фтор-C<sub>1-3</sub>залкіл, фтор-C<sub>1-3</sub>залкілокси або ціано; та

Ar являє собою незаміщений феніл або феніл, заміщений n радикалами R<sup>4</sup>, де n дорівнює 1, 2 або 3;

R<sup>4</sup> вибрано з групи, що складається з водню, галогену, C<sub>1-3</sub>залкілу,

гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкілу, полігалоген-C<sub>1-3</sub>залкілу, ціано, гідроксилу, аміно, карбоксилу,

C<sub>1-3</sub>залкілокси-C<sub>1-3</sub>залкілу, C<sub>1-3</sub>залкілокси, полігалоген-C<sub>1-3</sub>залкілокси, C<sub>1-3</sub>залкілкарбонілу, моно- та ді(C<sub>1-3</sub>залкіл)аміно і морфолінілу; або

два сусідніх R<sup>4</sup> радикали, що узяті разом, утворюють двовалентний радикал формули

-N=CH-NH- (i),

-CH=CH-NH- (ii) або

-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH- (iii); або

R<sup>3</sup> і радикал R<sup>4</sup> в орто-положенні, узяті разом, утворюють двовалентний радикал формули

-CH<sub>2</sub>-O- (iv) або

-O-CH<sub>2</sub>- (v);

а також їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

В конкретному варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>алкіл або C<sub>1-3</sub>залкіл, заміщений C<sub>3-7</sub>циклоалкілом, фенілом або фенілом, заміщеним галогеном, трифторметилом або трифторметокси;

R<sup>2</sup> являє собою галоген, трифторметил, C<sub>1-3</sub>залкіл або циклопропіл;

R<sup>3</sup> являє собою водень, фтор, гідроксил, гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкіл, гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкілокси,

фтор-C<sub>1-3</sub>залкіл, фтор-C<sub>1-3</sub>залкілокси або ціано; та

Ar являє собою незаміщений феніл або феніл, заміщений n радикалами R<sup>4</sup>, де n дорівнює 1, 2 або 3;

R<sup>4</sup> вибрано з групи, що складається з водню, галогену, C<sub>1-3</sub>залкілу,

гідроксі-C<sub>1-3</sub>залкілу, полігалоген-C<sub>1-3</sub>залкілу, ціано, гідроксилу, аміно, карбоксилу,

C<sub>1-3</sub>залкілокси-C<sub>1-3</sub>залкілу, C<sub>1-3</sub>залкілокси, полігалоген-C<sub>1-3</sub>залкілокси, C<sub>1-3</sub>залкілкарбонілу, моно- та ді(C<sub>1-3</sub>залкіл)аміно і морфолінілу; або

два сусідніх  $R^4$  радикали, що узяті разом, утворюють двовалентний радикал формули

$-N=CH-NH-$  (i),

$-CH=CH-NH-$  (ii) або

$-O-CH_2-CH_2-NH-$  (iii);

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В конкретному варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де  $R^1$  являє собою  $C_{1-6}$ алкіл або  $C_{1-3}$ алкіл, заміщений  $C_{3-7}$ циклоалкілом, фенілом або фенілом, заміщеним галогеном, трифторметилом або трифторметокси;

$R^2$  являє собою галоген, трифторметил,  $C_{1-3}$ алкіл або циклопропіл;

$R^3$  являє собою водень, фтор, гідроксил, гідроксі- $C_{1-3}$ алкіл, гідроксі- $C_{1-3}$ алкілокси, фтор- $C_{1-3}$ алкіл, фтор- $C_{1-3}$ алкілокси або ціано; і

Ag є незаміщеним фенілом;

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою 1-бутил, 2-метил-1-пропіл, 3-метил-1-бутил, (циклопропіл)метил або 2-(циклопропіл)-3-етил;

$R^3$  являє собою водень, фтор або ціано; і

Ag є незаміщеним фенілом;

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропіл)метил або 2-(циклопропіл)-1-етил;

$R^2$  являє собою хлор;

$R^3$  являє собою водень або фтор; і

Ag є незаміщеним фенілом;

а також їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою  $C_{1-6}$ алкіл або  $C_{1-3}$ алкіл, заміщений  $C_{3-7}$ циклоалкілом, фенілом або фенілом, заміщеним галогеном, трифторметилом або трифторметокси;

$R^2$  являє собою галоген, трифторметил,  $C_{1-3}$ алкіл або циклопропіл;

$R^3$  являє собою водень, фтор, гідроксил, гідроксі- $C_{1-3}$ алкіл, гідроксі- $C_{1-3}$ алкілокси, фтор- $C_{1-3}$ алкіл, фтор- $C_{1-3}$ алкілокси або ціано; та

Ag являє собою феніл, заміщений  $n$  радикалами  $R^4$ , де  $n$  дорівнює 1, 2 або 3;

$R^4$  вибрано з групи, що складається з галогену,  $C_{1-3}$ алкілу, гідроксі- $C_{1-3}$ алкілу,

$C_{1-3}$ алкілокси, полігалоген- $C_{1-3}$ алкілокси,  $C_{1-3}$ алкілкарбонілу, моно- та ді( $C_{1-3}$ алкіл)аміно і

морфолінілу; або

два сусідніх  $R^4$  радикали, що узяті разом, утворюють двовалентний радикал формули

$-N=CH-NH-$  (i),

$-CH=CH-NH-$  (ii) або

$-O-CH_2-CH_2-NH-$  (iii); або

$R^3$  і радикал  $R^4$  в орто-положенні, узяті разом, утворюють двовалентний радикал формули

$-CH_2-O-$  (iv),

$-O-CH_2-$  (v);

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою 1-бутил, 2-метил-1-пропіл, 3-метил-1-бутил, (циклопропіл)метил або 2-(циклопропіл)-1-етил;

$R^3$  являє собою водень, фтор або ціано; і

Ag являє собою феніл, заміщений галогеном, трифторметилом, морфолінілом або гідроксі- $C_{1-3}$ алкілом;

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропіл)метил або 2-(циклопропіл)-1-етил;

$R^2$  являє собою хлор;

$R^3$  являє собою водень або фтор; і

Ag являє собою феніл, заміщений щонайменше однією галогеновою групою;

а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-A) визначені в даному документі, де

$R^1$  являє собою 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропіл)метил або 2-(циклопропіл)-1-етил;

$R^2$  являє собою хлор;

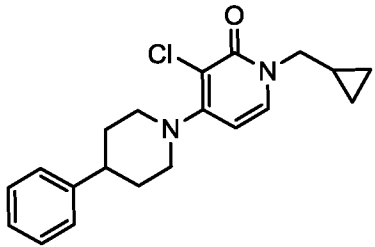
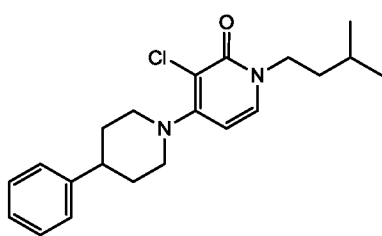
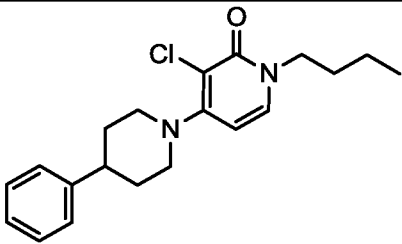
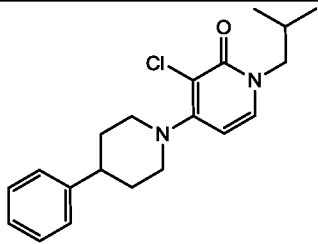
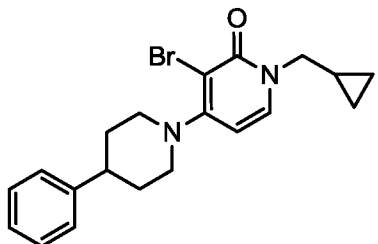
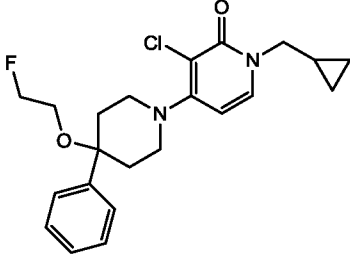
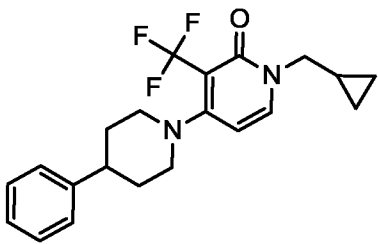
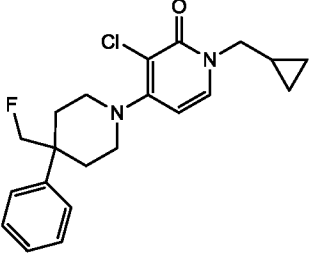
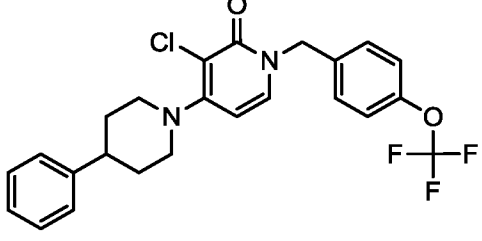
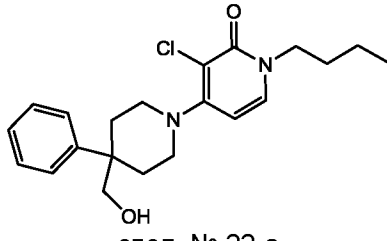
$R^3$  являє собою водень або фтор; і

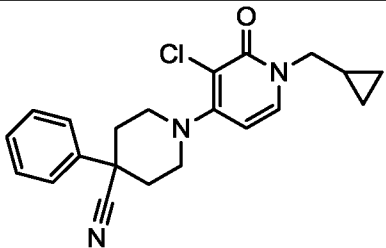
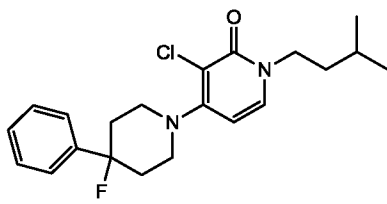
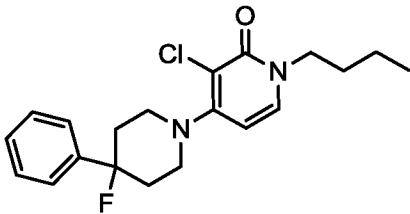
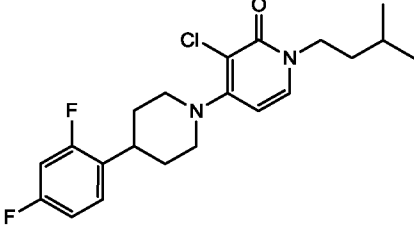
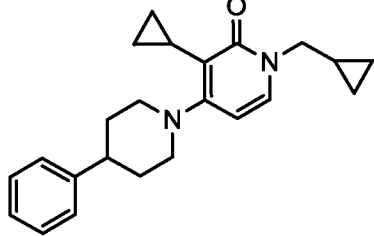
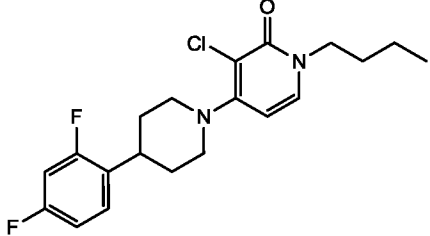
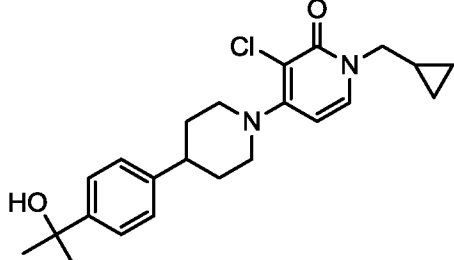
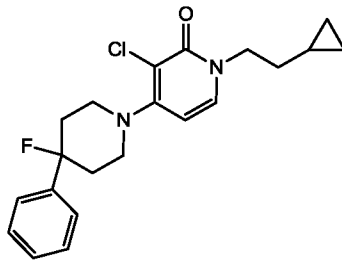
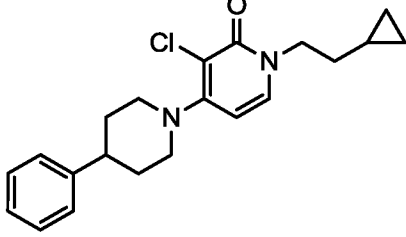
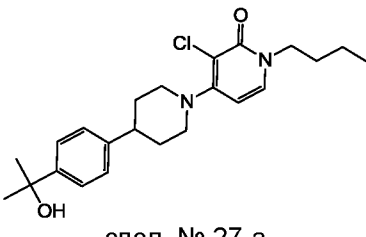
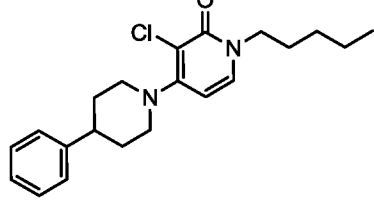
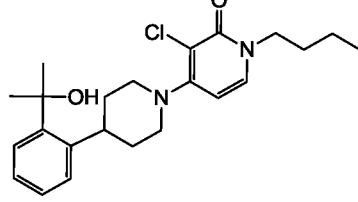
Аг являє собою феніл, заміщений щонайменше двома групами фтору;  
а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

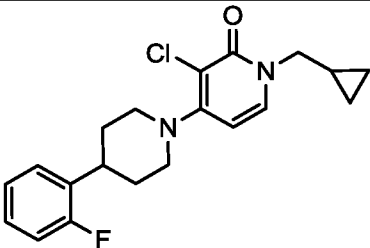
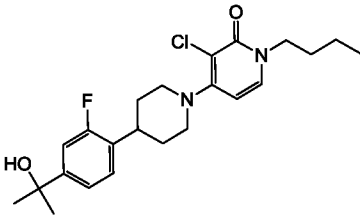
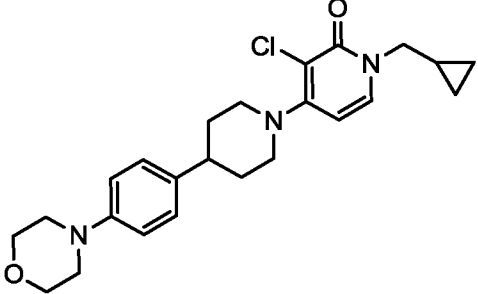
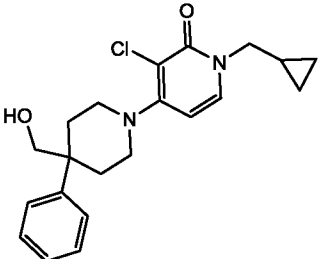
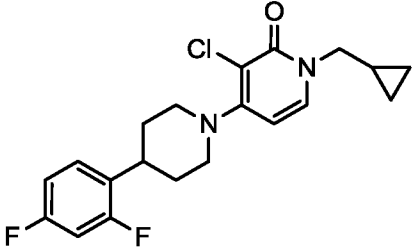
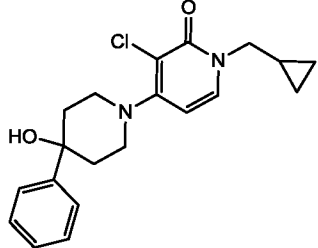
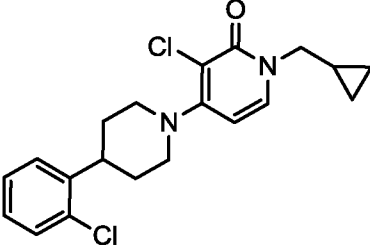
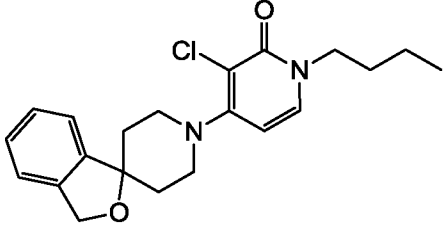
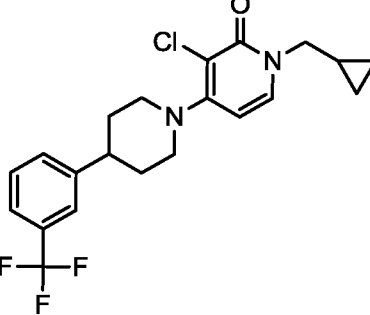
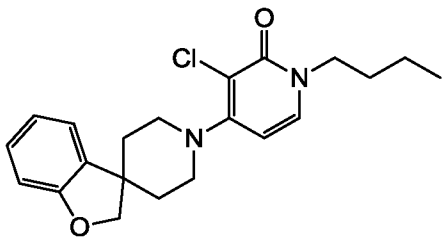
Сполуки формули (I-A) розкриті в патентному документі WO2009/033704 і можуть бути одержані згідно з описуваними в даному документі способами, які включено в даний документ

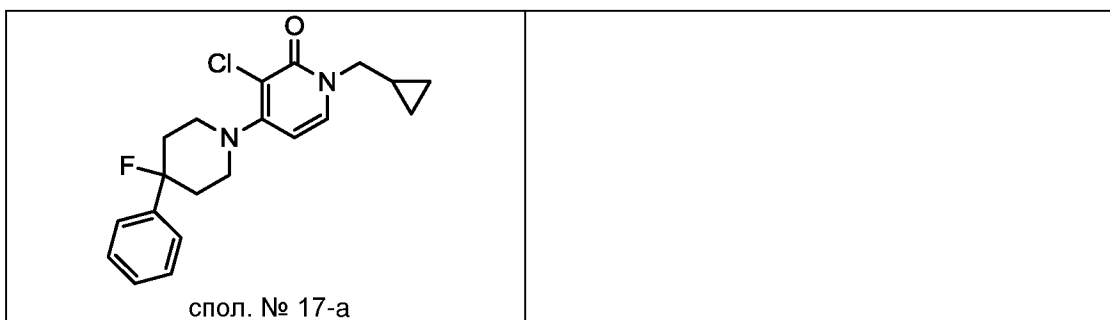
5

Конкретні сполуки формули (I-A) включають

|                                                                                                        |                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>спол. № 1-а</p>   |  <p>спол. № 18-а</p>   |
|  <p>спол. № 2-а</p>   |  <p>спол. № 19-а</p>   |
|  <p>спол. № 3-а</p>  |  <p>спол. № 20-а</p>  |
|  <p>спол. № 4-а</p> |  <p>спол. № 21-а</p> |
|  <p>спол. № 5-а</p> |  <p>спол. № 22-а</p> |

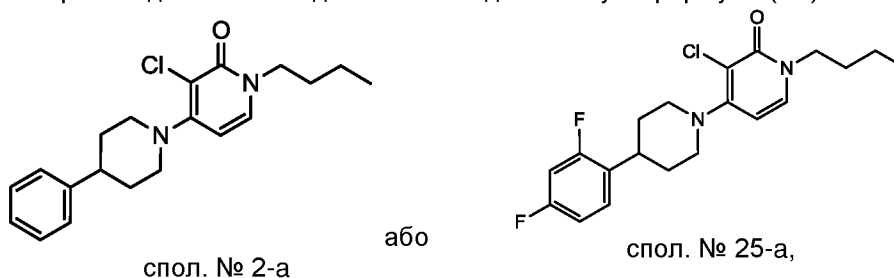
|                                                                                                         |                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>спол. № 6-а</p>    |  <p>спол. № 23-а</p>   |
|  <p>спол. № 7-а</p>    |  <p>спол. № 24-а</p>   |
|  <p>спол. № 8-а</p>    |  <p>спол. № 25-а</p>   |
|  <p>спол. № 9-а</p>  |  <p>спол. № 26-а</p> |
|  <p>спол. № 10-а</p> |  <p>спол. № 27-а</p> |
|  <p>спол. № 11-а</p> |  <p>спол. № 28-а</p> |

|                                                                                                         |                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>спол. № 12-а</p>   |  <p>спол. № 29-а</p>   |
|  <p>спол. № 13-а</p>   |  <p>спол. № 30-а</p>   |
|  <p>спол. № 14-а</p>  |  <p>спол. № 31-а</p>  |
|  <p>спол. № 15-а</p> |  <p>спол. № 32-а</p> |
|  <p>спол. № 16-а</p> |  <p>спол. № 33-а</p> |



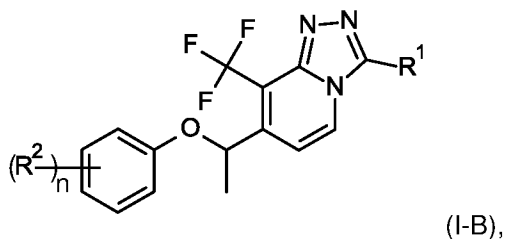
а також їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

У варіанті здійснення за даним винаходом сполука формули (I-A) являє собою



5 або їх фармацевтично прийнятна сіль або сольват.

Сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом також, зокрема, вибрані із сполук, розкритих в РСТ/EP2014/068676. Зазначені сполуки, розкриті в патентному документі РСТ/EP2014/068676, можна визначити наступною формулою (I-B):



10 та їх стереохімічно ізомерні форми, де  
 $R^1$  вибрано з групи, що складається з  $C_{1-6}$ алкілу, ( $C_{3-8}$ циклоалкіл) $C_{1-3}$ алкілу і  
 ( $C_{1-3}$ алкілокси) $C_{1-3}$ алкілу;  
 кожен  $R^2$  незалежно вибрано з F, Cl,  $C_{1-3}$ алкілу,  $C_{1-3}$ алкілокси, моно- або  
 15 полігалоген- $C_{1-3}$ алкілу та моно- або полігалоген- $C_{1-3}$ алкілокси;  
 $n$  є цілим числом, вибраним з 1, 2 і 3;  
 а також їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

Сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом, зокрема, вибрані із сполук формули (I-B), що визначені в даному документі вище, та їх стереоізомерних форм, де  $R^1$  вибрано з групи, яка складається з  $CH_3CH_2$ ,  $CH_3CH_2CH_2$ , (циклопропіл)метилу, (циклобутил)метилу, етилоксиметилу та метилоксиметилу; а інші змінні є такими, як визначено в даному документі; та їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом, зокрема, вибрані із сполук формули (I-B), що визначені в даному документі вище, та їх стереоізомерних форм, де  $R^1$  вибрано з групи, яка складається з  $CH_3CH_2$ , (циклопропіл)метилу, (циклобутил)метилу та метилоксиметилу; а інші змінні є такими, як визначено в даному документі; та їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

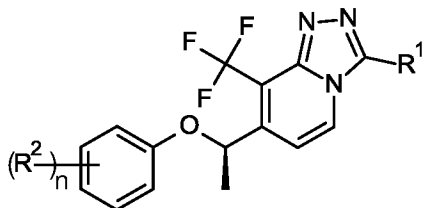
В додатковому варіанті здійснення сполуки PAM mGluR2 комбінації за даним винаходом, зокрема, вибрані із сполук формули (I-B), що визначені в даному документі вище, та їх стереоізомерних форм, де  $R^1$  вибрано з групи, яка складається з  $CH_3CH_2$ , (циклопропіл)метилу, (циклобутил)метилу та етилоксиметилу; а інші змінні є такими, як визначено в даному документі; та їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

Таким чином, згідно з конкретним варіантом здійснення за даним винаходом сполука, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор("PAM") метаботропного глутаматергічного

рецептора 2 підтипу ("mGluR2"), являє собою сполуку формули (I-B), яку визначено в даному документі.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-B) визначені в даному документі, де кожен  $R^2$  незалежно вибраний з F, Cl,  $CH_3$ ,  $CH_3O$  і  $CF_3$ ; а також її фармацевтично прийнятних солей і сольватів.

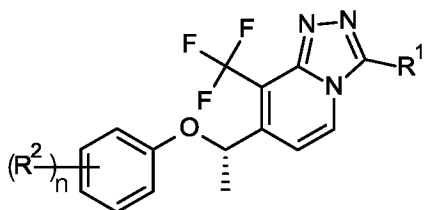
В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-B) визначені в даному документі як такі, що мають формулу



(I-Ba),

де змінні визначені в формулі (I-B) в даному документі, а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполуки формули (I-B) визначені в даному документі як такі, що мають формулу (I-Bb)



(I-Bb);

де змінні визначені в формулі (I-B) в даному документі, а також їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

Конкретні сполуки формули (I-B) включають

3-(циклопропілметил)-7-[1-(4-фторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1\*R)-1-(4-фторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1\*S)-1-(4-фторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1R)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(3,5-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(3,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(2,3-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(2,5-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(2,6-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(4-фтор-2-метоксифенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-[4,3-а]піридин;

7-[(1S)-1-(2-хлор-4-метилфенокси)етил]-3-(циклопропілметил)-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(4-фтор-2-метилфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;

3-(циклопропілметил)-8-(трифторметил)-7-[(1S)-1-(2,4,6-

трифторфенокси)етил][1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;  
 7-[1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-(етоксиметил)-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-  
 [4,3-а]піридин;  
 3-етил-8-(трифторметил)-7-[1-(2,4,6-трифторфенокси)етил][1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;  
 7-[1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-етил-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;  
 3-(циклобутилметил)-7-[(1\*R)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 3-(циклобутилметил)-7-[(1\*S)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 3-(етоксиметил)-8-(трифторметил)-7-[(1\*R)-1-(2,4,6-трифторфенокси)етил][1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 3-(етоксиметил)-8-(трифторметил)-7-[(1\*S)-1-(2,4,6-трифторфенокси)етил][1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 7-[(1\*S)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-(етоксиметил)-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 7-[(1\*R)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-(етоксиметил)-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-  
 а]піридин;  
 7-[(1\*R)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-етил-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-  
 [4,3-а]піридин;  
 7-[(1\*S)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-етил-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-  
 [4,3-а]піридин;  
 7-[1-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-пропіл-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин;  
 3-етил-8-(трифторметил)-7-[(1\*R)-1-(2,4,6-трифторфенокси)етил]-[1,2,4]триазоло-  
 [4,3-а]піридин;  
 3-етил-8-(трифторметил)-7-[(1\*S)-1-(2,4,6-трифторфенокси)етил]-[1,2,4]триазоло-  
 [4,3-а]піридин;  
 7-[(1\*R)-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-пропіл-8-(трифторметил)-[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин і  
 7-[(1\*S)-(2,4-дифторфенокси)етил]-3-пропіл-8-(трифторметил)-[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридин.

В обсяг даного переліку включені їх стереоізомерні форми, фармацевтично прийнятні солі і сольвати.

В додатковому варіанті здійснення сполука може бути вибрана з гідрохлоридної солі 3-(циклопропілметил)-7-[(1S)-1-(2,4-дифторфенокси)етил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]піридину

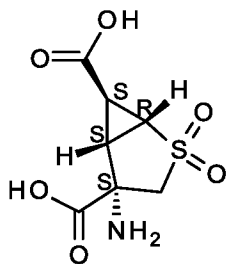
Ортостеричні агоністи mGluR2/mGluR2/3 комбінації за даним винаходом включають без обмеження, наприклад, LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-379268; DCG-IV; LY-354740; LY-314582; LY-544344; LY-2140023;

LY-181837; LY-389795; LY-446433; LY-450477; LY-395756; LY-566332; LY-541850; LY-2300559; LY-404040; LY-281223; LY-2979165; талаглюметад; MGS008; MGS0022; MGS0028; MGS0039;

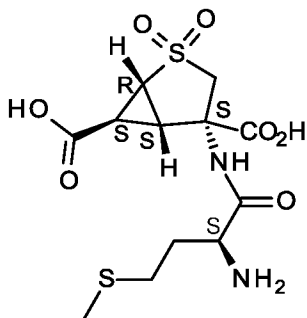
(-)-2-окса-4-амінобіцикло[3.1.0]гексан-4,6-дикарбоксилат; (+)-4-аміно-2-сульфонілбіцикло[3.1.0]гексан-4,6-дикарбонову кислоту; (+)-2-аміно-4-фторбіцикло-[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-4-оксобіцикло-[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 4S, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-4-гідроксибіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 3R, 5S, 6S-2-аміно-3-фторбіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 3S, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-3-гідроксибіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; (+)-4-аміно-2-сульфонілбіцикло-[3.1.0]гексан-4,6-дикарбонову кислоту; (+)-2-аміно-4-фторбіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-4-оксобіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 4S, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-4-гідроксибіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту; 1S, 2R, 3R, 5S, 6S-2-аміно-3-фторбіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту або 1S, 2R, 3S, 5S, 6S-2-аміно-6-фтор-3-гідроксибіцикло-[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту.

Конкретна група агоністів mGluR2 включає LY-379268; DCG-IV; LY-354740; LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-544344 та LY-2140023.

Ортостеричні агоністи метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу комбінації за даним винаходом, зокрема, додатково вибрані з агоністів, розкритих в WO1997/18199 та WO2003/104217, включених в даний документ у повному їхньому обсязі. Конкретними розкритими у вказаних документах сполуками є (-)-(1R, 4S, 5S, 6S)-4-аміно-2-сульфонілбіцикло[3.1.0]гексан-4,6-дикарбонова кислота (також відома як LY-404039)



або її сіль або сольват, та 2,2-діоксид (1R, 4S, 5S, 6S)-4-[[[(2S)-2-аміно-4-(метилтіо)-1-оксобутил]аміно]-2-тіабіцикло[3.1.0]гексан-4,6-дикарбонової кислоти (також відомий як LY-2140023 [CAS 635318-55-7])



або її сіль або сольват, наприклад, її моногідрат.

5 Назви сполук за даним винаходом були складені відповідно до правил номенклатури, прийнятих Хімічною реферативною службою (C.A.S.), з використанням програмного забезпечення Advanced Chemical Development, Inc. (версія продукту ACD/Name 10.01.0.14105, жовтень 2006 р.). У випадку таутомерних форм складали назву представленої таутомерної форми структури. При цьому необхідно розуміти, що інша не представлена таутомерна форма

10 також включена в обсяг даного винаходу.  
Позначення "C<sub>1-3</sub>алкіл", "C<sub>1-4</sub>алкіл" або "C<sub>1-6</sub>алкіл", що використовуються в даному документі як групи або частини групи, вказує на насичений, прямий або розгалужений вуглеводневий радикал, що має від 1 до 3, або від 1 до 4, або від 1 до 6 атомів вуглецю, такий як метил, етил, 1-пропіл, 1-метилетил, бутил, 1-метилпропіл, 2-метил-1-пропіл, 1,1-диметилетил, 3-метил-1-бутил, 1-пентил,

15 1-гексил тощо.

Позначення "C<sub>3-7</sub>циклоалкіл" або "C<sub>3-8</sub>циклоалкіл" як групи або частини групи вказує на насичений, циклічний вуглеводневий радикал, що має від 3 до 7 або від 3 до 8 атомів вуглецю, такий як циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил і циклооктил.

20 Позначення "галогенід" або "галоген", що використовуються в даному документі як групи або частини групи, стосуються фтору, хлору, бромю або йоду, при цьому фтор або хлор є переважними.

Позначення "моно- і полігалоген-C<sub>1-3</sub>алкіл" або "моно- і полігалоген-C<sub>1-4</sub>алкіл" буде відповідно вказувати на C<sub>1-3</sub>алкіл або C<sub>1-4</sub>алкіл, як визначено раніше, заміщених 1, 2, 3 або, при наявності можливості, більшою кількістю атомів галогенів, як визначено раніше.

25 Передбачається, що термін "заміщений" в усіх випадках використання в даному винаході означає, якщо не зазначено інше або чітко не впливає з контексту, що один або декілька атомів водню, переважно від 1 до 3 атомів водню, більш переважно від 1 до 2 атомів водню, більш переважно 1 атом водню, на атомі або радикалі, позначених з використанням виразу "заміщений", є заміщеними вибраним із вказаної групи за умови, що не перевищується нормальна валентність і що заміщення дає в результаті хімічно стабільну сполуку, тобто сполуку, яка є достатньо стійкою, щоб витримати виділення з реакційної суміші до придатного ступеня чистоти і складання у терапевтичний засіб.

30 Термін "протиепілептичний засіб", що використовується в даному документі, якщо не зазначено інше, і скорочення "AED" будуть застосовуватися взаємозамінно з терміном "протисудомний засіб", і в контексті даного винаходу вони стосуються засобу, за допомогою якого можна лікувати, пригнічувати або попереджати судомну активність або іктогенез при введенні засобу суб'єкту або пацієнту.

40 Термін "ліганд, що являє собою білок синаптичних везикул 2A", що використовується в даному документі, якщо не вказано інше, і скорочення "ліганд SV2A" будуть використовуватися взаємозамінно. Приклади лігандів SV2A включають без обмеження сполуки, включені в

публікації GB 1039113, GB 1309692, EP 1262036, EP 1806339, WO 2001/062726, US 2002/094787, WO 2004/087658, WO 2005/121082, WO 2005/054188, WO 2006/128692, WO 2006/128693, WO 2007/065595, WO 2008/132139 і WO 2008/132142, WO 2011/047860, WO 2012/143116 і WO 2012/143117. Придатні конкретні приклади лігандів SV2A включають без

5 обмеження леветирацетам, бриварацетам і селетрацетам.

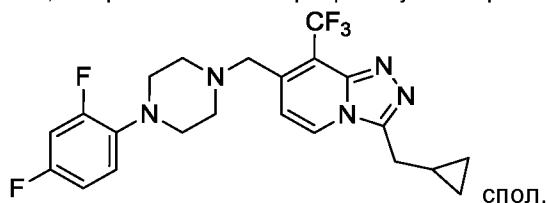
Таким чином, у варіанті здійснення за даним винаходом ліганд SV2A вибраний з леветирацетаму, бриварацетаму і селетрацетаму.

В конкретному варіанті здійснення лігандом SV2A є леветирацетам.

В конкретному варіанті здійснення лігандом SV2A є бриварацетам.

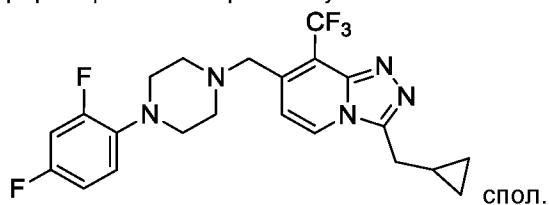
10 Способи одержання вищезазначених лігандів SV2A відомі з літератури і розкриті, наприклад, в EP 1806339; в EP 0162036 і в GB 2225322 (леветирацетам); в WO 01/62726 (бриварацетам); і в WO 2005/121082 (селетрацетам); таким чином, ці способи включені за допомогою посилання у повному їхньому обсязі.

15 В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) ліганд SV2A, вибраний з леветирацетаму або бриварацетаму; і (b)



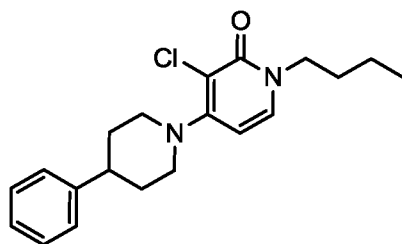
або її фармацевтично прийнятну сіль, переважно її хлористоводневу сіль, або її сольват.

В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



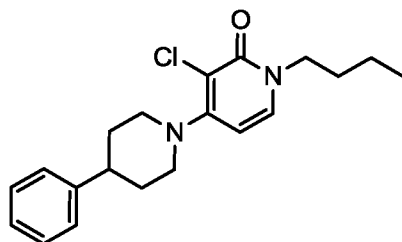
або її фармацевтично прийнятну сіль, переважно її хлористоводневу сіль, або її сольват.

20 В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

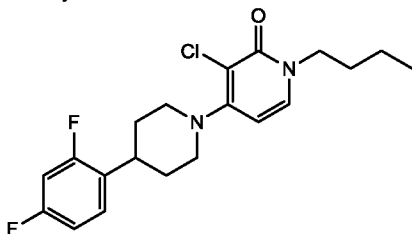
В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



(спол. № 2-a)

або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

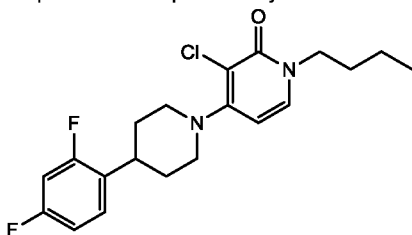
В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



(спол. № 25-a)

або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

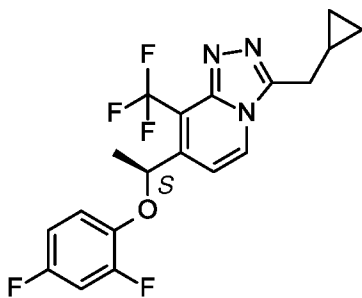
- 5 В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



(спол. № 25-a)

або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват.

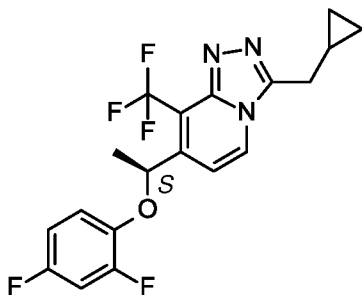
- 10 В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



(спол. № 6-b)

або її фармацевтично прийнятної солі, зокрема її хлористоводневої солі, або її сольвату.

- 15 В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість



(спол. № 6-b)

або її фармацевтично прийнятної солі, зокрема її хлористоводневої солі, або її сольвату.

В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму і (b) фармацевтично ефективну кількість LY-404039 або її фармацевтично прийнятної солі, зокрема її хлористоводневої солі, або її сольвату.

В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість LY-404039 або її фармацевтично прийнятної солі, зокрема її хлористоводневої солі, або її сольвату.

В додатковому варіанті здійснення комбінація згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість LY-2140023 або її фармацевтично прийнятної солі, або її сольвату, зокрема її моногідрату.

В додатковому варіанті здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом містить (а) фармацевтично ефективну кількість леветирацетаму або бриварацетаму; і (b) фармацевтично ефективну кількість LY-2140023 або її фармацевтично прийнятної солі, або її сольвату, зокрема її моногідрату.

Комбінований продукт за даним винаходом, зокрема, фармацевтична композиція згідно з даним винаходом переважно призначена для лікування епілепсії і пов'язаних з нею розладів.

Необхідно розуміти, що деякі сполуки mGluR2, зокрема PAM mGluR2/сполуки-агоністи mGluR2 за даним винаходом і їх фармацевтично прийнятні адитивні солі та їх сольвати, можуть містити один або декілька хіральних центрів та існувати у вигляді стереоізомерних форм.

Термін "сполука за даним винаходом", що використовується в даному документі, розуміють як такий, що включає сполуки PAM mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B) і сполуки-агоністи mGluR2, які розкриті в даному документі, та їх солі і сольвати.

Як використовується в даному документі, будь-яка хімічна формула із зв'язками, показаними лише у вигляді безперервних ліній, а не у вигляді безперервних клиноподібних або пунктирних клиноподібних зв'язків, або іншим чином показана як така, що має конкретну конфігурацію (наприклад, R, S) навколо одного або декількох атомів, охоплює кожен можливий стереоізомер або суміш двох або більше стереоізомерів.

Вище й нижче в даному документі терміни "сполука mGluR2" та "PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2" розуміють як такі, що включають їх стереоізомери і їх таутомерні форми. Вище й нижче в даному документі терміни "стереоізомери", "стереоізомерні форми" або "стереохімічно ізомерні форми" використовують взаємозамінно. Даний винахід включає всі стереоізомери сполук за даним винаходом або у вигляді чистого стереоізомеру, або у вигляді суміші двох або більше стереоізомерів. Енантіомери є стереоізомерами, які являють собою незбіжні дзеркальні відображення один одного. Суміш 1:1 пари енантіомерів являє собою рацемат або рацемічну суміш. Діастереомери (або діастереоізомери) являють собою стереоізомери, які не є енантіомерами, тобто вони не співвідносяться як дзеркальні відображення. Якщо сполука містить подвійний зв'язок, то замісники можуть бути в E- або Z-конфігурації. Замісники в бівалентних циклічних (частково) насичених радикалах можуть перебувати або в цис-, або в транс-конфігурації; наприклад, якщо сполука містить двозаміщену циклоалкільну групу, то замісники можуть перебувати в цис- або транс-конфігурації. Таким чином, даний винахід включає енантіомери, діастереомери, рацемати, E-ізомери, Z-ізомери, цис-ізомери, транс-ізомери та їх суміші в усіх випадках, якщо це можливо з точки зору хімії. Значення всіх цих термінів, тобто енантіомери, діастереомери, рацемати, E-ізомери, Z-ізомери, цис-ізомери, транс-ізомери та їх суміші, відомі спеціалісту в даній галузі. Абсолютну конфігурацію визначають згідно з системою Кана-Інгольда-Прелога. Конфігурація при асиметричному атомі визначається як R або як S. Виділені стереоізомери, абсолютна конфігурація яких невідома, можуть бути позначені як (+) або (-) в залежності від напрямку, в

якому вони обертають плоскополяризоване світло. Наприклад, виділені енантіомери, абсолютна конфігурація яких невідома, можуть позначатися як (+) або (-) в залежності від напрямку, в якому вони обертають плоскополяризоване світло.

Якщо зазначають конкретний стереоізомер, це означає, що вказаний стереоізомер практично не містить інші ізомери, тобто зв'язаний з менше 50 %, переважно менше 20 %, більш переважно менше 10 %, ще більш переважно менше 5 %, зокрема менше 2 % і найбільш переважно менше 1 % інших ізомерів. Таким чином, якщо сполука mGluR2, наприклад, зазначена як (R), то це означає, що сполука практично не містить ізомер (S); якщо сполука mGluR2, наприклад, зазначена як E, то це означає, що сполука практично не містить ізомер Z; якщо сполука mGluR2, наприклад, зазначена як цис, то це означає, що сполука практично не містить транс-ізомер.

Деякі сполуки mGluR2 також можуть існувати в своїх таутомерних формах. З огляду на те, що такі форми можуть існувати, передбачається, що вони, хоча явно і не показані вищенаведеною формулою, включені в обсяг даного винаходу.

Внаслідок цього одна сполука може існувати як в стереоізомерних, так і в таутомерних формах.

Для застосування в медицині солі сполук за даним винаходом стосуються нетоксичних "фармацевтично прийнятних солей" (солей сполук за даним винаходом, де протиіон є фармацевтично прийнятним). Проте інші солі можуть застосовувати для одержання або очищення сполук згідно з даним винаходом або їх фармацевтично прийнятних солей і можуть охоплювати кислоти і основи, які не є фармацевтично прийнятними. Усі солі, незалежно від того, чи є вони фармацевтично прийнятними чи ні, включені в обсяг даного винаходу.

Передбачається, що фармацевтично прийнятні адитивні солі кислот і основ, зазначені вище або нижче в даному документі, включають терапевтично активні нетоксичні форми солей приєднання кислот і основ, які можуть утворювати сполуки за даним винаходом. Придатні фармацевтично прийнятні солі таких сполук включають адитивні солі кислот, які можуть бути, наприклад, утворені шляхом змішування розчину сполуки з розчином фармацевтично прийнятної кислоти, такої як, наприклад, неорганічні кислоти, такі як галогенводневі кислоти, наприклад, хлористоводнева або бромистоводнева кислота, сірчана, азотна, фосфорна та інші кислоти; або органічні кислоти, такі як, наприклад, оцтова, пропіонова, гідроксіоцтова, молочна, піровиноградна, щавлева (тобто етандикислота), малінова, бурштинова (тобто бутандикислота), малеїнова, фумарова, яблучна, винна, лимонна, метансульфонова, етансульфонова, бензолсульфонова, п-толуолсульфонова, цикламова, саліцилова, п-аміносаліцилова, памова та ін. кислоти. І навпаки, зазначені форми солей можна перетворювати на форму вільної основи шляхом обробки відповідною основою. Крім того, якщо сполуки за даним винаходом несуть кислотний фрагмент, то їх придатні фармацевтично прийнятні солі можуть включати органічні і неорганічні основи. Відповідні форми основних солей включають, наприклад, солі амонію, солі лужних та лужноземельних металів, наприклад, солі літію, натрію, калію, магнію, кальцію тощо, солі органічних основ, наприклад, первинних, вторинних і третинних аліфатичних і ароматичних амінів, таких як метиламін, етиламін, пропіламін, ізопропіламін, чотири ізомери бутиламіну, диметиламін, диетиламін, диетаноламін, дипропіламін, діізопропіламін,

ди-н-бутиламін, піролідін, піперидин, морфолін, триметиламін, триетиламін, трипропіламін, хінуклідін, піридин, хінолін та ізохінолін; солі бензатину, N-метил-D-глюкаміну, гідрабіаміну, а також солі амінокислот, таких як, наприклад, аргінін, лізин тощо. І навпаки, форми солей можна перетворювати на форму вільної кислоти шляхом обробки кислотою.

Термін "сольват" включає адитивні форми розчинника, а також їх солей, які можуть утворювати сполуки формули (I). Прикладами таких адитивних форм розчинника є, наприклад, гідрати, алкоголяти тощо.

Одержання сполук формули (I-B)

Сполуки формули (I-B) згідно з даним винаходом загалом можна одержувати за допомогою послідовності стадій, кожна з яких відома спеціалісту в даній галузі. Зокрема, сполуки можна одержувати згідно з наступними способами синтезу.

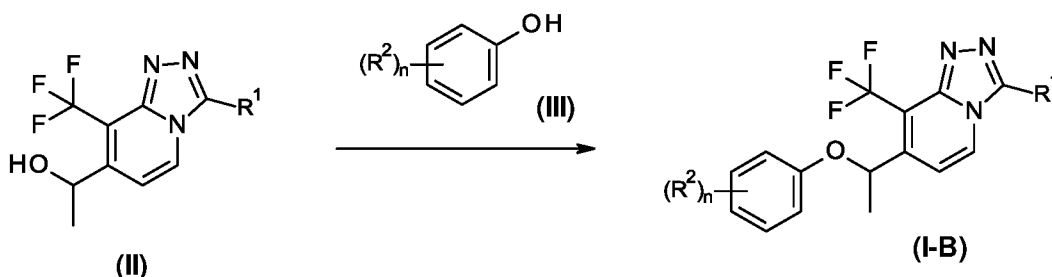
Сполуки формули (I-B) можна синтезувати у вигляді рацемічних сумішей енантіомерів, які можна відділити один від одного відповідно до відомих з рівня техніки процедур розділення. Рацемічні сполуки формули (I-B) можна перетворювати у відповідні форми діастереомерних солей за допомогою реакції з придатною хіральною кислотою. Зазначені форми діастереомерних солей потім розділяють, наприклад, за допомогою селективної або фракційної кристалізації, а енантіомери звідти виділяють за допомогою лугів. Альтернативний спосіб розділення енантіомерних форм сполук формули (I-B) включає рідинну хроматографію

або надкритичну рідинну хроматографію (SFC) із застосуванням хіральної нерухомої фази. Зазначені чисті стереохімічно ізомерні форми також можна одержувати з відповідних чистих стереохімічно ізомерних форм відповідних вихідних матеріалів за умови, що реакція протікає стереоспецифічно.

5 А. Одержання кінцевих сполук формули (I-B)

Кінцеві сполуки формули (I-B) можна одержувати шляхом реакції проміжної сполуки формули (II) зі сполукою формули (III) відповідно до схеми реакції (1), цю реакцію здійснюють в умовах класичної реакції Міцунобу. Реакцію переважно проводять з фосфіном і естером або амідом азодикарбонової кислоти в тетрагідрофурани, 1,4-діоксані, діетиловому етері, толуолі, бензолі, дихлорметані або їхніх сумішах при від -30 до 150°C при термічному нагріванні або під впливом мікрохвильового випромінювання. Фосфінами, які часто використовуються, є трифенілфосфін і трибутилфосфін, які зазвичай комбінують з диметилазодикарбоксилатом, диетилазодикарбоксилатом, диізопропілазодикарбоксилатом, ди-(4-хлорбензил)азодикарбоксилатом, дибензилазодикарбоксилатом, ди-трет-бутилазодикарбоксилатом, біс-(диметиламідом) азодикарбонової кислоти, дипіперідидом азодикарбонової кислоти або диморфолідом азодикарбонової кислоти. На схемі реакції (1) всі змінні є такими, які визначені в формулі (I-B).

Схема реакції 1

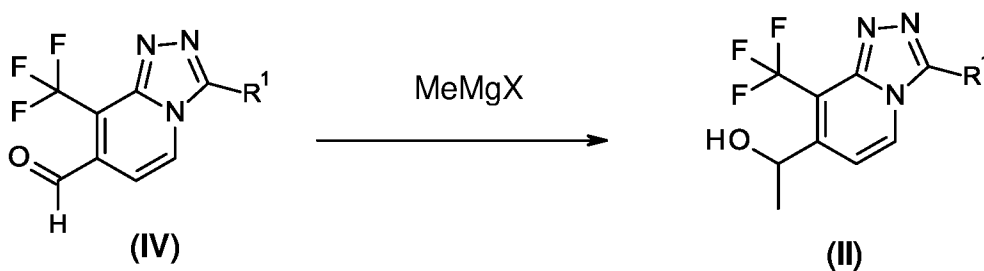


20 В. Одержання проміжних сполук

Експериментальна процедура 2

Проміжні сполуки формули (II) можна одержати шляхом, коли проміжну сполуку формули (IV) піддають умовам, відомим спеціалістам в даній галузі. Це проілюстровано на схемі реакції (2), де всі змінні визначені так, як зазначено в даному документі вище. Способи здійснення даних перетворень добре відомі спеціалістам в даній галузі. Обробка альдегіду формули (IV) металорганічною сполукою, такою як метиллітій або бромід метилмагнію, в результаті дає сполуку формули (II). Придатним розчинником для даної реакції є етер, такий як тетрагідрофурани, і реакцію зазвичай здійснюють при температурі від -78°C до 40°C. На схемі реакції 2 всі змінні є такими, які визначено в формулі (I-B).

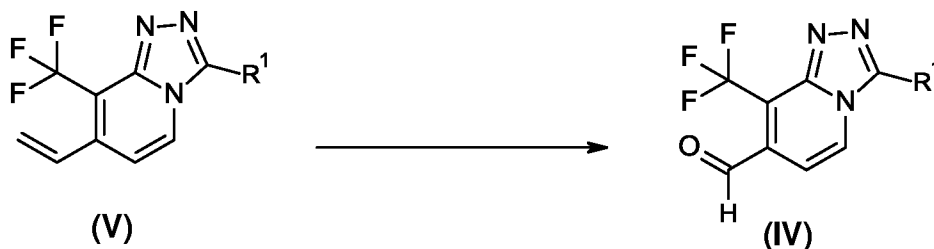
30 Схема реакції 2



Експериментальна процедура 3

Проміжні сполуки згідно формули (IV) можна одержати за допомогою реакції проміжної сполуки формули (V) в умовах дигідроксилювання і окиснювального розщеплення, які відомі спеціалістам в даній галузі і можуть бути реалізовані, наприклад, за допомогою оксону, тетраоксиду осмію. Спосіб можна необов'язково здійснювати в розчиннику, такому як 1,4-діоксан, вода, і, як правило, при температурах від приблизно -100°C до приблизно 100°C. Короткий опис таких способів можна знайти в "Comprehensive Organic Transformations", VCH Publishers, (1989), R.C.Larock, pp.595-596. Це проілюстровано на схемі реакції (3), де всі змінні визначені так, як зазначено в даному документі вище.

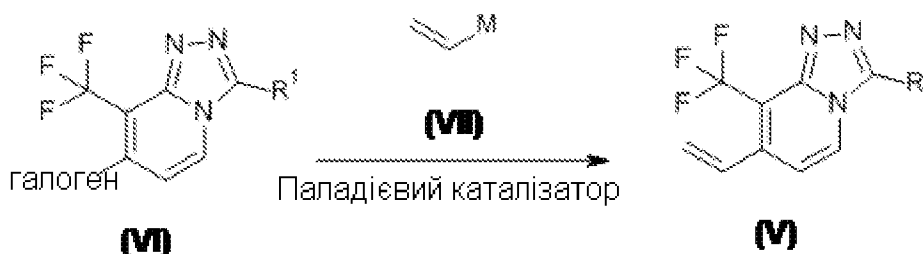
40 Схема реакції 3



## Експериментальна процедура 4

Проміжні сполуки згідно формули (V) можна одержати за допомогою реакцій сполучення, таких як реакції Стілле або Судзукі, проміжної сполуки формули (VI) зі сполукам формули (VII) в умовах, відомих спеціалістам в даній галузі. Спосіб можна необов'язково здійснювати в розчиннику, такому як 1,4-діоксан, вода, і, як правило, при температурах від приблизно к.т. до приблизно 200°C в присутності основи. Це проілюстровано на схемі реакції (4), де всі змінні визначені, як зазначено в даному документі вище, де М являє собою триалкілолово, боронову кислоту або боронатний естер, і присутній паладієвий каталізатор, а галоген являє собою хлор, бром або йод.

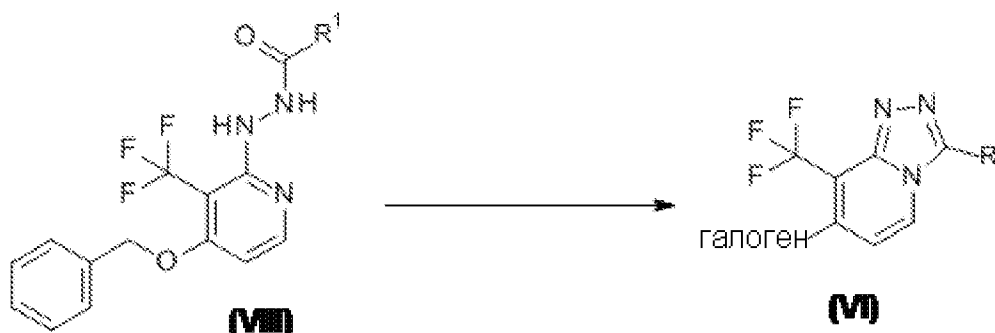
## Схема реакції 4



## Експериментальна процедура 5

Проміжні сполуки згідно формули (VI) можна одержати з дотриманням процедур, відомих з рівня техніки, шляхом циклізації проміжної сполуки формули (VIII) у присутності засобу для галогенування, такого як, наприклад, оксихлорид фосфору (V) ( $\text{POCl}_3$ ), у придатному розчиннику, такому як, наприклад, дихлоретан, при перемішуванні під впливом мікрохвильового випромінювання протягом придатного періоду часу, який дозволяє завершити реакцію, наприклад, 5 хв. при температурі 140-200°C. На схемі реакції (5)  $\text{R}^1$  визначений як у формулі (I-B), а галогеном є хлор, бром або йод.

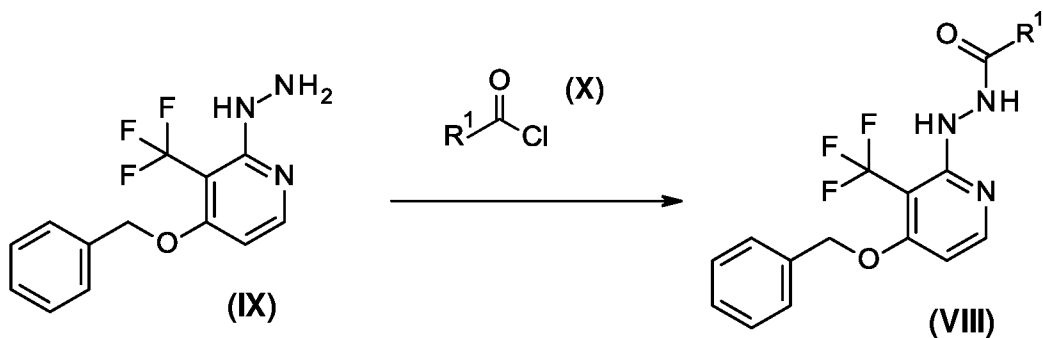
## Схема реакції 5



## Експериментальна процедура 6

Проміжні сполуки формули (VIII) можна одержати відповідно до процедур, відомих з рівня техніки, шляхом реакції гіdraзинової проміжної сполуки формули (IX) з галогенангідрідами формули (X). Реакцію можна здійснювати з використанням інертного розчинника, такого як, наприклад, DCM, в присутності основи, такої як, наприклад, триетиламін, наприклад, при к.т. протягом придатного періоду часу, який дозволяє завершити реакцію, наприклад, 20 хв. На схемі реакції (6)  $\text{R}^1$  визначений як в формулі (I-B).

## Схема реакції 6



## Експериментальна процедура 7

Проміжні сполуки формули (IX) можна одержати шляхом реакції проміжної сполуки формули (XI) з гідрaziном відповідно схеми реакції (7), цю реакцію здійснюють в придатному реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, етанол, THF або 1,4-діоксан, в таких температурних умовах, як, наприклад, нагрівання реакційної суміші, наприклад, при 160°C під впливом мікрохвильового опромінення протягом 30 хв. Або шляхом класичного термічного нагрівання при 70°C протягом 16 год. На схемі реакції (7) галоген являє собою хлор, бром або йод.

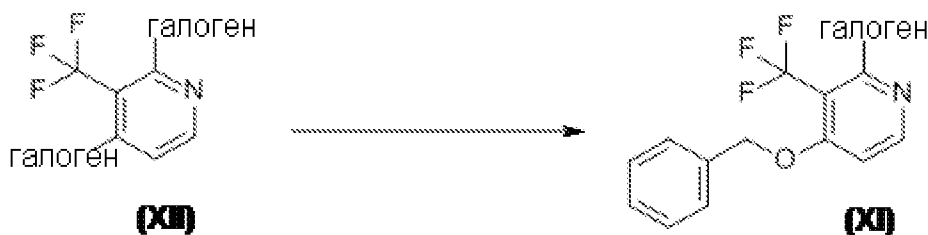
## Схема реакції 7



## Експериментальна процедура 8

Проміжні сполуки формули (XI) можна одержати за допомогою реакції проміжної сполуки формули (XII) з бензиловим спиртом відповідно до схеми реакції (8), цю реакцію здійснюють у придатному реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, N, N-диметилформамід, у присутності придатної основи, такої як, наприклад, гідрид натрію, при к.т. протягом придатного періоду часу, що дозволяє завершити реакцію, такого як, наприклад, 1 год. На схемі реакції (8) галоген являє собою хлор, бром або йод.

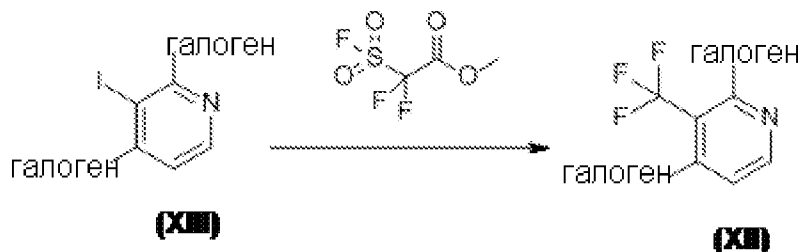
## Схема реакції 8



## Експериментальна процедура 9

Проміжні сполуки формули (XII) можна одержати за допомогою реакції проміжної сполуки формули (XIII) з придатним трифторметилуювальним засобом, таким як, наприклад, метиловий естер фторсульфоніл(дифтор)оцтової кислоти, відповідно до схеми реакції (9). Цю реакцію здійснюють в придатному реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, N, N-диметилформамід, у присутності придатного засобу для сполучення, такого як, наприклад, йодид міді(I), в таких температурних умовах, як, наприклад, нагрівання реакційної суміші, наприклад, при 160°C під впливом мікрохвильового випромінювання протягом 45 хв. На схемі реакції (9) галоген являє собою хлор, бром або йод.

## Схема реакції 9



Вихідні матеріали згідно сполук формул (II), (VII), (X) або (XIII) являють собою сполуки, які є комерційно доступними або можуть бути одержані згідно з традиційними процедурами реакцій, що загальновідомі спеціалістам в даній галузі.

Термін "композиція", що використовується в даному документі, призначений для охоплення продукту, який містить визначені інгредієнти у визначених кількостях, а також будь-якого продукту, який одержують прямо або опосередковано, в результаті комбінування визначених інгредієнтів у визначених кількостях.

Термін "суб'єкт", що використовується в даному документі, стосується тварини, переважно ссавця, найбільш переважно дорослої людини, дитини або немовля, які є або були об'єктом лікування, дослідження або експерименту.

Термін "терапевтично ефективна кількість", що використовується в даному документі, означає таку кількість активної сполуки або фармацевтичного засобу, які викликають біологічну або медичну відповідь в системі тканин у тварини або людини, який є необхідним досліднику, ветеринару, лікарю або іншому клініцисту, що включає полегшення одного або декількох симптомів захворювання або розладів, які піддають лікуванню; та/або зменшення важкості одного або декількох симптомів захворювання, яке піддають лікуванню.

Комбінація сполук (а) ліганду SV2A і (b) позитивного алостеричного модулятора ("PAM") метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу ("mGluR2") або їх фармацевтично прийнятної солі або сольвату, або ортостеричного агоніста метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу або його фармацевтично прийнятної солі або сольвату, незалежно від того, чи вводять сполуки (а) і (b) одночасно, окремо або послідовно, може спричинювати більш сприятливий ефект у порівнянні з ефектом сполук (а) або (b), що вводяться окремо. Зокрема, може спостерігатися щонайменше один сприятливий ефект, наприклад, взаємне підсилення ефекту сполук (а) і (b), ефект, що перевищує адитивний, зокрема, синергічний ефект; додаткові сприятливі ефекти включають, наприклад, значне зниження ефективної дози для комбінації (а) і (b); додатковий терапевтичний ефект, який не спостерігається для будь-якої із сполук (а) або (b) окремо, більш сприятливий профіль побічних ефектів, або комбінований терапевтичний ефект при неефективному дозуванні одного з (а) і (b) або як першої, так і другої сполуки.

Як визначено в контексті даної заявки вираз "фіксоване співвідношення доз (а) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A, та (b) сполуки формули (I), що становить 1:1, розраховане по значенням ED<sub>50</sub> для окремих сполук (а) і (b)" стосується композицій, які містять сполуки (а) і (b) в дозі, що відповідає 50 % відносної дози ED<sub>50</sub> для сполук (а) і (b) окремо або величині, кратній такому фіксованому співвідношенню доз. Термін "фіксоване співвідношення доз (а) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A: (b) сполуки формули (I), яке становить 3:1, розраховане по значенням ED<sub>50</sub> для окремих сполук (а) і (b)", стосується композицій, які містять (b) сполуку формули (I) в дозі, що відповідає 75 % відносної дози ED<sub>50</sub>, і сполуку (а) в дозі, що відповідає 25 % відносної дози ED<sub>50</sub> для сполуки (а), або величині, що кратна такому фіксованому співвідношенню доз, тощо.

Таким чином, в другому варіанті здійснення за даним винаходом (а) ліганд SV2A і (b) сполука формули (I) є присутніми в фармацевтичній композиції при фіксованому співвідношенні доз (а):(b) від приблизно 1:10 до приблизно 10:1, переважно від приблизно 1:5 до приблизно 5:1, більш переважно від приблизно 1:3 до приблизно 3:1, в другому варіанті здійснення від приблизно 1:1 до приблизно 3:1; в альтернативному варіанті здійснення 1:3; в ще одному варіанті здійснення 1:1; в додатковому варіанті здійснення 3:1; де фіксоване співвідношення доз розраховане по значенням ED<sub>50</sub> для окремих сполук (а) і (b).

При цьому даний винахід направлено на котерапію або комбіновану терапію, яка передбачає введення (а) ліганду, який являє собою білок синаптичних везикул 2A ("SV2A"); та (b) PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), які визначено в даному документі, при цьому фармацевтична або терапевтично ефективна кількість повинна означати таку кількість комбінації взятих разом засобів, при якій комбінований ефект викликає необхідну біологічну або медичну реакцію. Наприклад, терапевтично ефективна кількість при

котерапії, що передбачає введення (а) ліганду SV2A, який визначений в даному документі, та (b) PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), які визначено в даному документі, може бути кількістю (а) ліганду SV2A, який визначений в даному документі, і кількістю (b) PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), які

5 при спільному або послідовному прийомі спричиняють комбінований ефект, який є терапевтично ефективним. Додатково спеціаліст в даній галузі визнає, що у випадку котерапії терапевтично ефективною кількістю, як у вищеописаному прикладі, кількість PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема, сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), та/або кількість придатного ліганду SV2A окремо може бути або може не бути терапевтично ефективною.

10 Даний винахід пропонує способи попередження або лікування, які передбачають призначення суб'єкту, який потребує цього, котерапії терапевтично ефективною кількістю ліганду SV2A і терапевтично ефективною кількістю PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), яка описана в даному документі. Для досягнення даної мети сполуки або композиції за даним винаходом необхідно застосовувати у правильних

15 терапевтично ефективній кількості або дозі, які описані нижче.

Оптимальні дозування і схеми лікування, які необхідно призначати, можуть з легкістю визначити спеціалісти в даній галузі, і вони будуть змінюватися в залежності від конкретної сполуки, яка застосовується, способу введення, активності препарату і прогресування хворобливого стану. Крім того, фактори, пов'язані з конкретним пацієнтом, якого піддають

20 лікуванню, у тому числі вік, вага, харчовий раціон і час введення будуть обумовлювати необхідність у корегуванні дозувань.

Спеціаліст в даній галузі зрозуміє, що терапевтично ефективне дозування сполук за даним винаходом може включати повторні дози в рамках подовженої схеми лікування, які будуть забезпечувати клінічно значущі результати.

25 Кількості PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), в комбінаціях за даним винаходом, які вводять щодобово, можуть варіювати від приблизно 0,01 до приблизно 2000 мг. Приклади добових кількостей сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B) становлять 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 750 та 1000 міліграмів для симптоматичного регулювання дозування для пацієнта, який підлягає

30 лікуванню. Ефективну кількість лікарського засобу, як правило, вводять при рівні дозування від приблизно 0,01 мг/кг до приблизно 150,0 мг/кг ваги тіла на добу або в будь-якому діапазоні в межах даного діапазону. Переважно діапазон становить від приблизно 0,1 до приблизно 100,0 мг/кг ваги тіла на добу, більш переважно від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 50 мг/кг, більш переважно від приблизно 1,0 до приблизно 25,0 мг/кг ваги тіла на добу. Сполуки можна вводити по схемі 1, 2, 3 або 4 рази на добу. Кількості ліганду SV2A, які вводять щодобово, можуть

35 варіювати від приблизно 0,01 до приблизно 7000 мг, переважно будуть становити від 250 до 5000 мг або більш переважно будуть становити від 500 до 3000 мг. Прикладами добової кількості ліганду SV2A є 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1500 і 3000 міліграмів для симптоматичного регулювання дозування у пацієнта, який підлягає

40 лікуванню. Ефективну кількість лікарського засобу, як правило, вводять при рівні дозування від приблизно 0,01 мг/кг до приблизно 150,0 мг/кг ваги тіла на добу або в будь-якому діапазоні в межах даного діапазону. Переважно діапазон становить від приблизно 0,1 до приблизно 100,0 мг/кг ваги тіла на добу, більш переважно від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 50 мг/кг, більш переважно від приблизно 1,0 до приблизно 25,0 мг/кг ваги тіла на добу. Сполуки можна вводити по схемі 1, 2, 3 або 4 рази на добу. Всі кількості, які згадують в даному і наступних абзацах,

45 стосуються вільної форми (тобто несольової форми). Наведені вище значення представляють еквіваленти вільної форми, тобто величини вільної форми, які будуть вводитися. При введенні солей кількості необхідно розрахувати в залежності від співвідношення молекулярних мас форми солі і вільної форми.

50 Зазначені вище щодобові дози розраховані для середньої ваги тіла, яка становить приблизно 70 кг, і повинні бути перераховані у випадку застосування в педіатрії або при застосуванні щодо пацієнтів із суттєвим відхиленням ваги тіла.

Дозування можуть бути представлені у вигляді однієї, двох, трьох або чотирьох або більше частин дози, які вводять через визначені інтервали протягом дня. Дозування, що

55 використовується, переважно відповідає добовій кількості PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), або ліганду SV2A, зазначеного вище, або частині його дози, такої як його 1/2, 1/3, 1/4. Лікарська форма може містити PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку (I)/(I-A)/(I-B), або ліганд SV2A, або обидві сполуки разом у кількості, яка дорівнює діапазонам або кількостям, згаданим у попередніх

60 абзацах, наприклад, лікарська форма може містити 10 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг або 200 мг

PAM/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки (I)/(I-A)/(I-B), 10 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг або 250 мг ліганда SV2A, або в окремих складах, або в комбінованих складах. В одному варіанті здійснення PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), вводять один раз на добу (q.d.), зокрема у вигляді однієї дози на добу, а ліганд SV2A вводять  
 5 один раз на добу або два рази на добу (q.d. або b.i.d.), зокрема у вигляді однієї або двох доз на добу. У випадку, коли обидві сполуки підлягають введенню один раз на добу, це можна здійснювати шляхом введення двох окремих доз, одну з PAM mGluR2/сполукою-агоністом mGluR2, зокрема із сполукою формули (I)/(I-A)/(I-B), одну з лігандом SV2A, або шляхом введення комбінованої дози, що містить PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку  
 10 формули (I)/(I-A)/(I-B), і ліганд SV2A.

Комбінації за даним винаходом можна вводити один, два, три, чотири або у випадку необхідності багато раз на добу. В одному варіанті здійснення комбінацію вводять один раз на добу. В другому варіанті здійснення комбінацію вводять два рази на добу або три рази на добу. Введення доз можна здійснювати за допомогою окремих лікарських форм, тобто за допомогою  
 15 лікарських форм, що містять тільки PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), або тільки ліганд SV2A; або за допомогою комбінованих лікарських форм, що містять активні інгредієнти PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), і ліганд SV2A. Також можна застосовувати поєднання застосування комбінованої лікарської форми і застосування окремих лікарських форм. Лікарські форми, які можна вводити,  
 20 описані далі в даному документі, при цьому лікарські форми для перорального застосування, зокрема, таблетки або капсули, є переважними.

Активні інгредієнти можуть бути складені в фармацевтичні композиції або окремо, або як комбінована фармацевтична композиція. В останньому випадку одержують фармацевтичну композицію, що містить терапевтично ефективну кількість PAM mGluR2/сполуки-агоніста  
 25 mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B) або її фармацевтично прийнятної солі, та ліганду SV2A, при цьому вищезазначене є таким, як вказано в даному документі, і фармацевтично прийнятний носій.

В додатковому аспекті даний винахід стосується способу одержання фармацевтичної композиції, описаної в даному документі, який передбачає ретельне перемішування  
 30 фармацевтично прийнятного носія з терапевтично ефективною кількістю PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B) або її фармацевтично прийнятної солі або сольовату, і терапевтично ефективною кількістю щонайменше одного ліганду SV2A.

Комбінації, представлені в даному документі, також можуть бути складені у вигляді комбінованого препарату для одночасного, окремого або послідовного застосування в  
 35 попередженні або лікуванні епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і пов'язаних з ними розладів, в нейропротекції або в попередженні епілептогенезу. В такому випадку PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), складають в фармацевтичну композицію, яка містить інші фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, а ліганд SV2A складають окремо в  
 40 фармацевтичну композицію, яка містить інші фармацевтично прийнятні допоміжні речовини. Кажучи умовно, ці окремі фармацевтичні композиції можуть бути частиною набору для одночасного, окремого або послідовного застосування.

Окремі компоненти комбінації за даним винаходом можна вводити одночасно або окремо в різні моменти часу протягом курсу терапії або паралельно в розділених або одиничних  
 45 комбінованих формах.

З урахування вищезазначеного, PAM mGluR2/сполуки-агоністи mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), і ліганд SV2A, окремо або в комбінації, можуть бути складені в окремі придатні для введення фармацевтичні композиції. В цих композиціях терапевтично ефективну кількість конкретної сполуки або обох сполук об'єднують з фармацевтично прийнятним носієм,  
 50 причому носій може набувати широкого різноманіття форм в залежності від необхідної для введення форми препарату. Фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді лікарських препаратів для перорального, парентерального (в тому числі підшкірного (s.c.), внутрішньом'язового (i.m.) і внутрішньовенного (i.v.)), ректального, трансдермального, трансбукального або інтраназального введення. Також можна одержати фармацевтичні  
 55 композиції для введення безпосередньо в нервову систему шляхами, в том числі без обмеження шляхом інтрацеребрального, інтравентрикулярного, інтрацеребровентрикулярного, інтратекального, інтрацистерального, інтраспінального та/або периспінального шляхів за допомогою доставки через голки та/або катетери для інтракраніального або інтравертебрального введення за допомогою насосних пристроїв або без них. Придатні  
 60 композиції для перорального введення включають порошки, грануляти, агрегати, таблетки,

пресовані або вкриті оболонкою пілюлі, драже, саше, тверді або желатинові капсули, сиропи і суспензії. Придатні композиції для парентерального введення включають водні або неводні розчини або емульсії, у той час як придатні композиції для ректального введення включають супозиторії з гідрофільним або гідрофобним наповнювачем. Для місцевого введення можна використовувати придатні системи трансдермальної доставки, а для назальної доставки можна використовувати придатні аерозольні системи доставки.

Наприклад, при одержанні композицій для перорального введення можна використовувати будь-яке звичайне фармацевтичне середовище, таке як, наприклад, вода, гліколі, масла, спирти тощо, у випадку рідких композицій для перорального введення, таких як суспензії, сиропи, еліксири, емульсії і розчини; або тверді носії, такі як крохмалі, цукри, каолін, змащувальні речовини, зв'язувальні речовини, розрихлювачі тощо, у випадку твердих композицій. У випадку композицій для парентерального введення носій буде, як правило, містити стерильну воду, щонайменше в значному ступені, хоча туди можна додати інші інгредієнти, такі як солюбілізатори, емульгатори або додаткові допоміжні речовини. Можуть бути одержані розчини для ін'єкцій, в яких носій містить сольовий розчин, розчин глюкози або суміш обох з них. Також можна одержати суспензії для ін'єкцій, у випадку яких можна використовувати придатні рідкі носії, суспендувальні засоби тощо. Також включені препарати в твердій формі, які призначені для перетворення безпосередньо перед застосуванням в препарати в рідкій формі, такі як порошки для розчинення. В композиціях, придатних для підшкірного введення, носій необов'язково містить засіб, підсилювач проникнення через шкіру та/або змочувальний засіб, необов'язкового об'єднаний з придатними сумісними із шкірою добавками в незначних кількостях. Сполука PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2, зокрема сполука формули (I)/(I-A)/(I-B), або ліганд SV2A або їх комбінації також можна вводити за допомогою пероральної інгаляції або інсуфляції складів, придатних для даного типу введення, таких як розчин, суспензія або сухий порошок. Придатні фармацевтичні композиції для введення в формі аерозолів або спреїв являють собою, наприклад, суспензії PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), або ліганду SV2A, або як у фармацевтично прийнятному рідкому носії, такому як етанол або вода, або їх суміш. За необхідності склад може також додатково містити інші фармацевтичні допоміжні речовини, такі як поверхнево-активні речовини, емульгатори і стабілізатори, так же як і діючу речовину. Такий препарат зазвичай містить активну сполуку в концентрації від приблизно 0,1 до 50 %, зокрема від приблизно 0,3 % до 3 % за вагою.

Фармацевтичні композиції можуть містити активний інгредієнт сполуку PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), або ліганд SV2A, або обидві складові в комбінації в концентрації від приблизно 0,1 % до приблизно 50 %, або від приблизно 1 % до приблизно 30 %, або від приблизно 3 % до приблизно 20 %, або від приблизно 5 % до приблизно 20 %, при цьому всі відсотки зазначені за вагою, причому сумарно всі компоненти у вказаних фармацевтичних композиціях не перевищують 100 %. В композиціях, які містять обидві сполуки, сполуку PAM mGluR2/сполуку-агоніст mGluR2, зокрема сполуку формули (I)/(I-A)/(I-B), та ліганд SV2A, сполука PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2, зокрема сполука формули (I)/(I-A)/(I-B) присутня в концентрації від приблизно 0,1 % до приблизно 50 %, або від приблизно 1 % до приблизно 30 %, або від приблизно 3 % до приблизно 20 %, або від приблизно 5 % до приблизно 20 %; а ліганд SV2A присутній в концентрації від приблизно 3 % до приблизно 50 %, або від приблизно 5 % до приблизно 50 %, або від приблизно 10 % до приблизно 50 %, або від приблизно 10 % до приблизно 40 %, або від приблизно 10 % до приблизно 30 %, причому сумарно всі компоненти у вказаних фармацевтичних композиціях не перевищують 100 %.

Фармацевтичні композиції можуть бути умовно представлені в стандартній лікарській формі для простоти введення і рівномірності дозування. Приклади включають таблетки (зокрема таблетки з насінком або вкриті оболонкою), капсули, пігулки, супозиторії, пакетики з порошком, облатки, розчини або суспензії для ін'єкцій тощо, а також їх сукупність. Інтерес являють тверді лікарські форми для перорального введення, такі як таблетки або капсули.

Тверді лікарські форми у формі стандартної дози можуть бути упаковані в будь-яку відому упаковку, при цьому блістерна упаковка є переважною, зокрема, для таблеток і капсул. Якщо PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2, зокрема сполука формули (I)/(I-A)/(I-B), і ліганд SV2A складені окремо, вони можуть бути упаковані в окремі блістери, але один блістер може також містити форми стандартної дози PAM mGluR2/сполуки-агоністу mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), і ліганду SV2A, наприклад, один ряд з одиницями PAM mGluR2/сполуки-агоністу mGluR2, зокрема сполуки формули (I)/(I-A)/(I-B), а інший з лігандом SV2A. Інші варіанти також є можливими.

Комбінації за даним винаходом можна застосовувати для лікування або попередження епілепсії і пов'язаних з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю і біполярних і пов'язаних з ними розладів; або їх можна застосовувати як нейропротектор або для попередження епілептогенезу.

5 Передбачається, що термін "лікування", що використовується в даному документі, стосується всіх способів, яка можуть передбачати уповільнення, порушення, пригнічування або зупинення прогресування хвороби або полегшення симптомів, але необов'язково означає повне усунення всіх симптомів.

В контексті даної заявки, якщо не зазначено інше, терміни "епілепсія і пов'язані з нею розлади" або "епілепсія або пов'язаний з нею розлад" будуть означати будь-який розлад, під час якого суб'єкт (переважно доросла людина, дитина або немовля) зазнає один або декілька епілептичних нападів та/або нападів тремору. Прийнятні приклади включають без обмеження епілепсію (в тому числі, без обмеження, локалізаційно-обумовлені форми епілепсії, генералізовані форми епілепсії, форми епілепсії як з генералізованими, так і з локальними нападами тощо), парціальні напади з генералізацією або без неї, міоклонічні напади, первинні генералізовані тоніко-клонічні напади, особливо у пацієнтів з ідіопатичною генералізованою епілепсією, напади, асоційовані з синдромом Леннокса-Гасто, напади як ускладнення захворювання або стану (як, наприклад, напади, асоційовані з енцефалопатією, фенілкетонурією, ювенільною формою хвороби Гоше, прогресуючою міоклонічною епілепсією Лундборга, інсультом, травмою голови, стресом, гормональними змінами, вживанням лікарських засобів або відміною лікарських засобів, вживанням алкоголю або відміною алкоголю, депривацією сну, лихоманкою, інфекцією тощо), епілептичний статус (судомний або безсудомний), есенціальний тремор, синдром неспокійних кінцівок. Розлад переважно вибрано з епілепсії (незалежно від типу, першопричини або походження), есенціального тремору або синдрому неспокійних кінцівок. Більш переважно, розлад являє собою епілепсію (незалежно від типу, першопричини або походження) або есенціальний тремор. Конкретним прикладом епілепсії є рефрактерна епілепсія, яку також називають епілепсією, стійкою до лікування або терапії. Цей термін часто використовується, якщо застосування пацієнтами трьох або більше протиепілептичних лікарських засобів (AED) не дало результату. Рефрактерна епілепсія також включає рефрактерну парціальну епілепсію і рефрактерну генералізовану епілепсію (в тому числі ідіопатичну або симптоматичну).

Термін "невропатичний біль", що використовується в даному документі, включає біль в результаті хронічних або виснажувальних станів або розладів. Хронічні або виснажливі стани чи розлади, які можуть призвести до невропатичного болю, включають без обмеження больову форму діабетичної периферичної нейропатії, постгерпетичну невралгію, тригемінальну невралгію, постінсультний біль, біль, асоційований з розсіяним склерозом, біль, асоційований з невропатіями, такий як при ідіопатичній або посттравматичній невропатії і мононевриті, невропатичний біль, асоційований з ВІЛ, невропатичний біль, асоційований з раком, невропатичний біль, асоційований з каналом зап'ястка, біль, асоційований з ушкодженням спинного мозку, комплексний регіональний больовий синдром, невропатичний біль, асоційований з фіброміалгією, лямбарний і цервікальний біль, рефлекторну симпатичну дистрофію, синдром фантомного болю та інші больові синдроми, асоційований з хронічними і виснажливими станами.

Термін "мігрень", що використовується в даному документі, буде означати хронічний, епізодичний і виснажувальний клінічний стан, який діагностують по наявності середньо-важких пульсуючих односторонніх головних болей, які тривають від 4 до 72 год., який включає мігрень без аури і мігрень з аурою. Термін "мігрень без аури", що використовується в даному документі, буде вказувати щонайменше на п'ять нападів, що відповідають наступним критеріям: (а) напад головного болю триває від 4 до 72 годин з головним болем, який має щонайменше дві з наступних особливостей: одностороння локалізація, пульсуючий характер, помірна або важка інтенсивність з безпосереднім впливом на активності в повсякденному житті і погіршення стану при підйомі по сходах або при подібних процедурах; і (b) під час нападу головного болю щонайменше виникає наступне: нудота та/або блювота і побоювання світла та фонофобія. Термін "мігрень з аурою", що використовується в даному документі, буде вказувати щонайменше на два напади, які супроводжуються щонайменше 3 з 4 наступних особливостей: (а) один або декілька повністю зворотних симптомів аури; (b) щонайменше один симптом аури, який поступово розвивається протягом більше чотирьох хвилин, або два або більше симптомів, які проявляються послідовно; (c) відсутність симптому аури, який триває більше 60 хвилин; (d) головний біль з'являється до, одночасно з аурою або після аури з невизначеним інтервалом між аурою і головним болем, що становить менше приблизно 60 хвилин.

Термін "біполярні і пов'язані з ними розлади", що використовується в даному документі, буде включати біполярний розлад I (наприклад, одиночний маніакальний епізод, недавній гіпоманіакальний епізод, недавній маніакальний епізод, недавній змішаний епізод, недавній депресивний епізод і недавній невизначений епізод), біполярний розлад II, циклотимічний розлад і біполярний розлад без додаткових уточнень (оскільки ці терміни визначені за їх діагностичними критеріями в Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders 4th Edition, Text Revision, American Psychiatric Association, 2000 (DSM-IV-TR) або в 5<sup>th</sup> Edition, Text Revision, American Psychiatric Association, 2013 (DSM-5™). Переважно біполярний розлад характеризується депресивною і маніакальною (або гіпоманіакальною) фазами, причому фази є циклічними. Переважно біполярний розлад являє собою біполярний розлад I або біполярний розлад II типу. Термін "манія", що використовується в даному документі, буде включати манію або фазу маніакальної схильності, без урахування першопричини. Мається на увазі, що термін "біполярна манія", що використовується в даному документі, означає манію, асоційовану з біполярним розладом, характерну для нього або яка є його симптомом. Таким чином, способи лікування біполярної манії за даним винаходом направлені на способи, за допомогою яких лікують манію та/або маніакальну фазу біполярних розладів. Мається на увазі, що термін "біполярна депресія", що використовується в даному документі, означає депресію, асоційовану з біполярним розладом, характерну для нього або яка є його симптомом. Таким чином, способи лікування біполярної депресії за даним винаходом направлені на способи, за допомогою яких лікують депресію та/або депресивну фазу біполярних розладів. В контексті даного документу, якщо не зазначено інше, терміни "періодичність" або "біполярна періодичність" будуть стосуватися зміни настрою від депресивної до маніакальної фаз, характерних для біполярних розладів. Таким чином, даний винахід включає способи стабілізації зазначеної циклічності, що передбачають без обмеження зменшення частоти періодичності та/або зменшення інтенсивності маніакальних та/або депресивних фаз.

Таким чином, в одному варіанті здійснення фармацевтичну композицію за даним винаходом можна використовувати для стабілізації настрою, зокрема стабілізації настрою при маніакальній депресії.

Термін "епілептогенез", що використовується в даному документі, стосується поступовому процесу розвитку епілепсії. Даний процес може виникати після крововиливів у мозок або ряду станів, включаючи нейродегенеративні захворювання, травматичне пошкодження головного мозку, інсульт, пухлину головного мозку, інфекції центральної нервової системи і епілептичний статус, або він може виникнути після генних мутацій.

Термін "тривожність", що використовується в даному документі, стосується, зокрема, генералізованого тривожного розладу.

Термін "приблизно", що використовується в даному документі, має своє загальновживане значення. В конкретних варіантах здійснення, перебуваючи у зв'язку з числовим значенням, воно може бути інтерпретоване як числове значення  $\pm 10\%$ , або  $\pm 5\%$ , або  $\pm 2\%$ , або  $\pm 1\%$ , або  $\pm 0,5\%$ , або  $\pm 0,1\%$ . В інших варіантах здійснення мають на увазі точне значення, тобто з виключенням слова "приблизно".

"Та/або" означає, що кожний компонент, або обидва, або всі компоненти або характеристики з переліку є можливими варіантами, особливо два або більше з них, у вигляді альтернативи або спільно.

Форми "однини", "множини" і подібні терміни, що використовуються в контексті даного винаходу (особливо в контексті формули винаходу), необхідно трактувати як такі, що охоплюють як форми однини, так і форми множини, якщо в даному документі не зазначено інше або це очевидно не заперечується контекстом.

#### ПРИКЛАДИ

Наступні приклади наведені з метою сприяння розумінню даного винаходу, не передбачаються і не повинні тлумачитися як такі, що будь-яким чином обмежують даний винахід, викладений у формулі винаходу, яка наведена далі.

#### А) СПОЛУКИ ФОРМУЛИ (I-B) - ХІМІЯ ТА ТЕСТУВАННЯ IN VITRO

Деякі способи одержання сполук формули (I-B) за даним винаходом проілюстровані в наступних прикладах. Якщо не зазначено інше, всі витратні матеріали одержували від приватних постачальників і застосовували без додаткового очищення.

Далі в даному документі "водн." означає водний; "DCE" означає 1,2-дихлоретан, "DCM" означає дихлорметан; "DIPE" означає діізопропіловий етер; "DIPEA" означає N, N-діізопропілетиламін; "DMF" означає N, N-диметилформамід; "ES" означає електророзпилення; "Et<sub>3</sub>N" означає триетиламін; "Et<sub>2</sub>O" означає диетиловий етер; "EtOAc" означає етилацетат; "год." означає години; "HPLC" означає високоефективну рідинну хроматографію; "HRMS" означає

мас-спектри/спектрометрію з високою роздільною здатністю; "л" означає літр; "LRMS" означає мас-спектри/спектрометрію з низькою роздільною здатністю; "MeOH" означає метанол; "хв." означає хвилину(хвилини); "т.пл." означає температуру плавлення; "Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>" означає тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0); "RP" означає зворотню фазу; "к.т." означає кімнатну температуру; "с" означає секунди; "насих." означає насичений; "SFC" означає надкритичну рідинну хроматографію; "розч." означає розчин; "THF" означає тетрагідрофуран.

Реакції за допомогою мікрохвильового випромінення проводили в однорежимному реакторі, мікрохвильовому реакторі Initiator™ Sixty EXP (Biotage AB), або в багаторежимному реакторі MicroSYNTH Labstation (Milestone, Inc.).

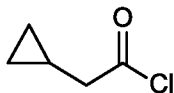
Тонкошарову хроматографію (TLC) проводили на пластинках із шаром силікагелю 60 F254 (Merck) із застосуванням розчинників чистих для аналізу. Хроматографію на відкритих колонках здійснювали на силікагелі з розміром частинок 60 Å при 230-400 меш (Merck) із застосуванням стандартних методик. Автоматизовану колонкову флеш-хроматографію проводили із застосуванням готових до підключення картриджів від Merck на силікагелі із частинками неправильної форми з розміром частинок 15-40 мкм (одноразові колонки для нормально-фазової флеш-хроматографії) в системі SPOT або LAFLASH від Armen Instrument.

Абсолютну стереохімічну конфігурацію для деяких сполук визначали за допомогою вібраційного кругового дихроїзму (VCD). Їх вимірювали на Bruker Equinox 55, обладнаному PMA 37, в рідинній кюветі з вікном з KBr із використанням CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> як розчинника (PEM: 1350 см<sup>-1</sup>, LIA: 1 мВ, роздільна здатність: 4 см<sup>-1</sup>). Опис застосування VCD для визначення абсолютної конфігурації наведено в Dyatkin A.B. et. al, Chirality, 14:215-219 (2002).

В усіх випадках позначення "RS", зазначене в даному документі, означає, що сполука являє собою рацемічну суміш, якщо не зазначено інше. Стереохімічна конфігурація для деяких сполук була позначена як "R" або "S", якщо суміш була розділеною; для деяких сполук стереохімічна конфігурація була позначена як "\*\*R" або "\*\*S", якщо абсолютна стереохімічна конфігурація не визначена, хоча саму сполуку виділили як окремий стереоізомер і вона є енантіомерно чистою. Енантіомерний надлишок сполук, описаних в даному документі, визначали за допомогою аналізу рацемічної суміші за допомогою надкритичної рідинної хроматографії (SFC) з наступним порівнянням розділених під час SFC енантіомерів.

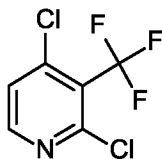
Одержання проміжних сполук

Опис 1 - проміжна сполука 1



Циклопропілоцтову кислоту ([CAS 5239-82-7], 50 г, 500 ммолів) розчиняли в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 мл), а потім додавали SOCl<sub>2</sub> (100 мл). Реакційну суміш перемішували при 60°C протягом 2 год., а потім розчинник випарювали з одержанням проміжної сполуки 1 (53 г, 90 %), яку застосовували без додаткового очищення.

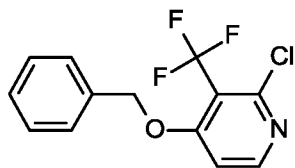
Опис 2 - проміжна сполука 2



В розчин 2,4-дихлор-3-йодпіридину ([CAS 343781-36-2], 290 г, 1058 ммолів) в DMF (1,7 л) додавали метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфоніл)ацетат ([CAS 680-15-9], 403 г, 2098 ммолів) і CuI (403 г, 2,13 моля), а потім реакційну суміш нагрівали при 100°C протягом 5 год.

Реакційну суміш охолоджували і фільтрували. Фільтрат розбавляли за допомогою H<sub>2</sub>O, і екстрагували за допомогою Et<sub>2</sub>O, і промивали розчином NH<sub>3</sub>. Органічний шар висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 2 (160 г), яку застосовували без додаткового очищення.

Опис 3 - проміжна сполука 3

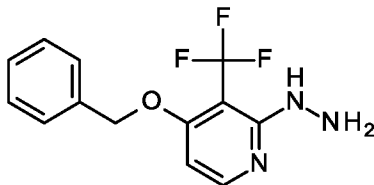


В розчин NaH (60 % в маслі, 24 г, 600 ммолів) в DMF (2 л) при 0°C додавали бензиловий спирт (35 г, 325 ммоль), а потім реакційну суміш перемішували протягом 2 хв. Проміжну сполуку 2 (160 мг, 741 ммоль) додавали однією порцією і перемішували при 0°C протягом 1 год. Реакційну суміш розбавляли шляхом додавання H<sub>2</sub>O і екстрагували за допомогою Et<sub>2</sub>O.

5

Органічний шар висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюент: петролейний етер/EtOAc=20/1). Очищені фракції збирали і розчинник випарювали з одержанням проміжної сполуки 3 (100 г, 38 %).

Опис 4 - проміжна сполука 4

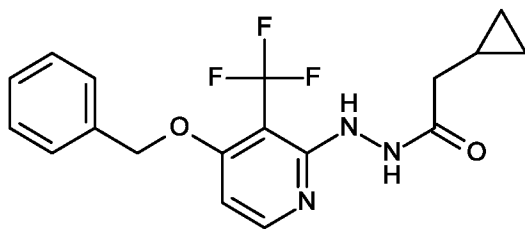


10

В розчин проміжної сполуки 3 (100 г, 277 ммолів) в 1,4-диоксані (1,5 л) додавали гідрат NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> (85 % розчин у воді, 300 г, 9,11 моля), а потім реакційну суміш нагрівали в запаяній пробірці при 160°C протягом 2 год. Суміш концентрували in vacuo, розчиняли в DCM, промивали за допомогою NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 4 (90 г, 90 %), яку застосовували без додаткового очищення.

15

Опис 5 - проміжна сполука 5



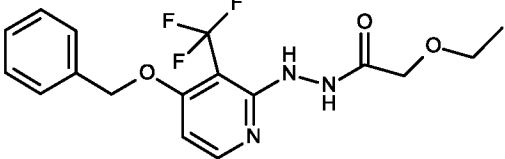
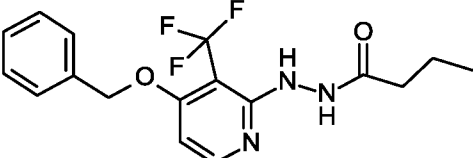
В розчин проміжної сполуки 4 (90 г, 318 ммолів) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,5 л) додавали триетиламін (64,3 г, 636 ммолів), суміш охолоджували до 0°C, а потім додавали розчин проміжної сполуки 1 (53 г, 449 ммолів) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Розчин перемішували при к.т. протягом 1 год. Реакційну суміш промивали насич. водн. розч. NaHCO<sub>3</sub> та екстрагували за допомогою CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Органічний шар висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 5 (104,4 г, 90 %).

20

Наступні проміжні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною вказаній в описі 5 (D5).

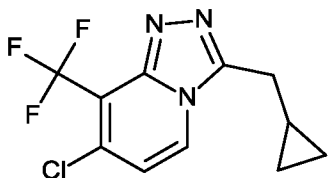
25

| Проміжна сполука          | Хлорангідрид                                 | Умови                      |
|---------------------------|----------------------------------------------|----------------------------|
| <p>Проміжна сполука 6</p> | Пропіонілхлорид<br>([CAS 79-03-8])           | Додатковий прогон при к.т. |
| <p>Проміжна сполука 7</p> | Циклобутанацетилхлорид<br>([CAS 59543-38-3]) | Умови аналогічні D5.       |

| Проміжна сполука                                                                                         | Хлорангідрид                               | Умови                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------|
| <br>Проміжна сполука 8  | 2-етоксиацетилхлорид<br>([CAS 14077-58-8]) | Умови аналогічні D5. |
| <br>Проміжна сполука 25 | Бутирилхлорид ([CAS 141-75-3])             | Умови аналогічні D5. |

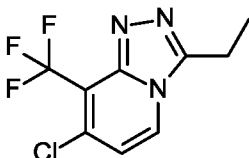
Опис 6

(а) Проміжна сполука 9



- 5 В розчин проміжної сполуки 5 (101 г, 277 ммолів) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (1,2 л) додавали оксихлорид фосфору(V) (84,7 г, 553 ммоль) та N, N-диізопропілетиламін (71,3 г, 553 ммоль). Реакційну суміш перемішували при 90°C протягом 38 год. Реакційну суміш потім розбавляли за допомогою DCM і промивали розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Органічний шар висушували ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюент: петролейний етер/ $\text{EtOAc}$ =4/1). Очищені фракції збирали і розчинник випарювали з одержанням проміжної сполуки 9 (31,39 г, 41 %).

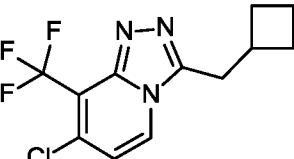
(b) Проміжна сполука 10

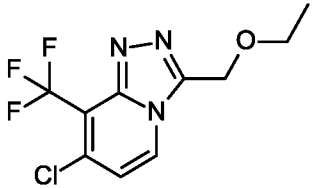
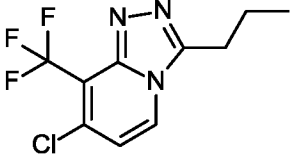


Реакцію проводили в 4 партіях, а потім об'єднували для виділення та очищення.

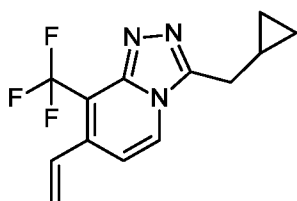
- 15 В розчин проміжної сполуки 6 (7 г, 20,6 ммоль) в DCE (50 мл) додавали N, N-диізопропілетиламін (3,96 мл, 22,69 ммоль), а потім оксихлорид фосфору (2,12 мл, 22,69 ммоль), і реакційну суміш нагрівали в мікрохвильовій печі при 150°C протягом 5 хв. Потім додавали DCM, і органічний шар промивали насич. розч.  $\text{NaHCO}_3$ , висушували ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) та концентрували in vacuo з одержанням необхідної сполуки, яку очищували за допомогою колонкової хроматографії (градієнтне елюювання: від 100 % DCM до 2 %  $\text{MeOH} \cdot \text{NH}_3$  в DCM) з одержанням проміжної сполуки 10 (2,5 г, 49 %).

Наступні проміжні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною вказаній в описі 6(a) або (b).

| Проміжна сполука                                                                                           | Вихідний матеріал  | Умови                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>Проміжна сполука 11 | Проміжна сполука 7 | Реакцію проводили аналогічно як в (а), але в $\text{CH}_3\text{CN}$ . Після завершення реакції реакційну суміш виливали в воду з льодом, а потім промивали насич. розч. $\text{NaHCO}_3$ і екстрагували за допомогою DCM, висушували ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтрували і концентрували. Очищення |

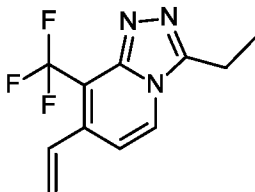
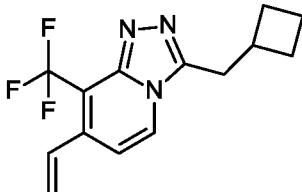
| Проміжна сполука                                                                  | Вихідний матеріал   | Умови                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Проміжна сполука 8  | Реакцію проводили аналогічно як в (b). Очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; EtOAc в DCM від 0/100 до 40/60).                           |
| Проміжна сполука 12                                                               |                     |                                                                                                                                                                         |
|  | Проміжна сполука 25 | Реакцію проводили аналогічно як в (a). Очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> від 0/100 до 4/96). |
| Проміжна сполука 26                                                               |                     |                                                                                                                                                                         |

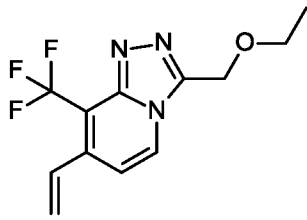
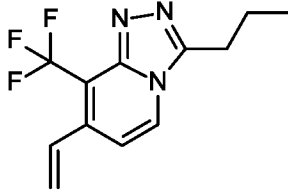
Опис 7 - проміжна сполука 13



До перемішаного розчину проміжної сполуки 9 (10 г, 36,28 ммоль) і 4,4,5,5-тетраметил-2-вініл-1,3,2-диоксборолану ([CAS 75927-49-0], 7,77 мл, 43,53 ммоль) в дезоксигенованому диоксані (30 мл) і дезоксигенованому насиченому розчині NaHCO<sub>3</sub> (30 мл) в атмосфері азоту додавали (Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd (2,096 г, 1,81 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 18 год. Суміш розбавляли сумішшю EtOAc/вода і фільтрували через прокладку з діатомітової землі. Фільтрат обробляли сольовим розчином і екстрагували за допомогою EtOAc. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і розчинники випарювали in vacuo. Неочищений продукт очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; EtOAc в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> від 0/100 до 5/95). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 13 (6,08, 63 %) у вигляді жовтої твердої речовини.

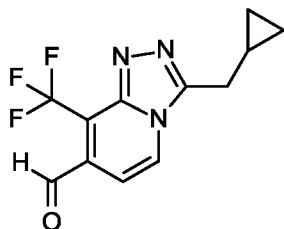
Наступні проміжні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною вказаній в описі 7.

| Проміжна сполука                                                                    | Вихідний матеріал   | Умови                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Проміжна сполука 10 | Реакцію проводили при 150 °C. Очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; 7N розчин аміаку в метанолі в DCM від 0/100 до 1/9). |
| Проміжна сполука 14                                                                 |                     |                                                                                                                                                          |
|  | Проміжна сполука 11 | Екстракція за допомогою DCM, очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM 4/96).                                     |
| Проміжна сполука 15                                                                 |                     |                                                                                                                                                          |

|                                                                                                              |                            |                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Проміжна сполука 16</p> | <p>Проміжна сполука 12</p> | <p>Очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; EtOAc в DCM від 0/100 до 10/90).</p>                                                                      |
|  <p>Проміжна сполука 27</p> | <p>Проміжна сполука 26</p> | <p>З реакційною сумішшю проводили дії при 150 °C в мікрохвильовій печі. Очищення за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; EtOAc в DCM від 0/100 до 10/90).</p> |

Опис 8

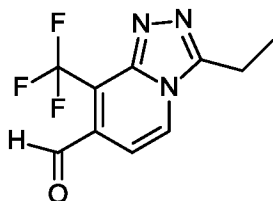
(a) Проміжна сполука 17



5 В суспензії проміжної сполуки 13 (6,08 г, 20,02 ммоль) в діоксані (192 мл) додавали тетраоксид осмію (2,5 % в трет-БуОН, 10,103 мл, 0,781 ммоль), а потім періодат натрію (12,53 г, 58,58 ммоль) у воді (48,5 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год.

10 Суміш обробляли водою і EtOAc та відфільтровували через прокладку з діатомітової землі. Фільтрат екстрагували за допомогою EtOAc. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і розчинники випарювали in vacuo. Неочищений продукт промивали за допомогою Et<sub>2</sub>O і його фільтрували й висушували з одержанням проміжної сполуки 17 (4,25 г, 79 %) у вигляді коричневої твердої речовини.

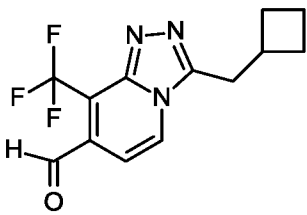
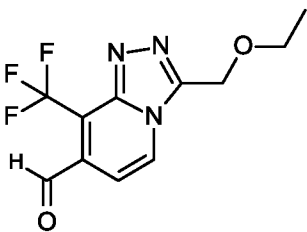
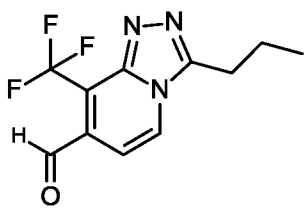
(b) Проміжна сполука 18



15 В перемішуваний розчин тетраоксиду осмію (2,5 % в трет-БуОН, 4,06 мл, 0,31 ммоль) і проміжної сполуки 14 (2,08 г, 7,85 ммоль) в діоксані (75 мл) додавали суспензію періодату натрію (5,04 г, 23,54 ммоль) в дистильованій воді (19 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 150 хв., а потім суміш обробляли насич. NaHCO<sub>3</sub> і сольовим розчином та екстрагували за допомогою DCM. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Продукт розтирали в порошок з Et<sub>2</sub>O і фільтрували in vacuo, а потім поміщали в сушильну шафу при 50°C на 18 год. з одержанням проміжної сполуки 18 (1,6 г, 80 %) у вигляді коричневої твердої речовини.

Наступні проміжні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною вказаній в описі 8.

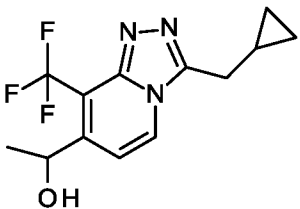
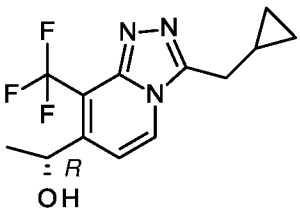
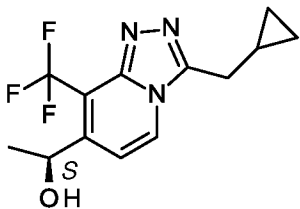
25

| Проміжна сполука                                                                                              | Вихідний матеріал   | Умови                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Проміжна сполука 19</p>  | Проміжна сполука 15 | Аналогічна процедура як в (а).                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|  <p>Проміжна сполука 20</p>  | Проміжна сполука 16 | Аналогічна процедура як в (а).                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|  <p>Проміжна сполука 28</p> | Проміжна сполука 27 | Аналогічна процедура як в (а), порядок додавання: тетраоксид осмію додавали в перемішуваний розчин проміжної сполуки 27 в 1,4-диоксані, потім додавали суспензію перйодату натрію у воді, і реакційну суміш перемішували протягом 2 год. при к.т. Фільтрацію через прокладку з діатомітової землі не проводили. |

## Опис 9

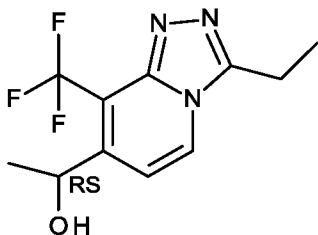
(а) Проміжні сполуки 21а, 21b та 21с

5

|                                                                                                                 |                                                                                                                 |                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Проміжна сполука 21а</p> |  <p>Проміжна сполука 21b</p> |  <p>Проміжна сполука 21с</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

В перемішувану суспензію проміжної сполуки 17 (4,25 г, 15,79 ммоль) в THF (281,07 мл) при -20°C в атмосфері N<sub>2</sub> по краплям додавали бромід метилмагнію (1,4 М в THF, 12,40 мл, 17,37 ммоль). Суміш перемішували при -20 °С протягом 45 хвилин. Неочищений продукт обробляли насич. розч. NH<sub>4</sub>Cl і екстрагували за допомогою EtOAc. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 4/96). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 21а (рацемічна суміш) (2,96 г, 66 %). Проміжну сполуку 21а (1,82 г) очищували за допомогою хіральної SFC [нерухома фаза: CHIRALPAK AD-H (5 мкм, 250 × 20 мм), рухома фаза: 80 % CO<sub>2</sub>, 20 % EtOH] з одержанням 21b (R-енантіомеру) (0,453 г, 10 %) у вигляді блідо-сірої твердої речовини і проміжної сполуки 21с (S-енантіомеру) (0,439 г, 10 %).

(b) Проміжна сполука 22

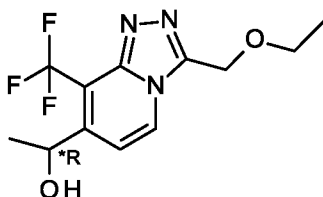


- В перемішувану суспензію проміжної сполуки 18 (1,23 г, 5,06 ммоль) в THF (90 мл) при -20°C в атмосфері N<sub>2</sub> по краплям додавали бромід метилмагнію (1,4 М в THF, 3,97 мл, 5,56 ммоль). Суміш перемішували при -20 °C протягом 45 хвилин. Неочищений продукт обробляли насич. розч. NH<sub>4</sub>Cl і екстрагували за допомогою EtOAc. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 4/96). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Залишок, одержаний таким чином, розтирали в порошок з Et<sub>2</sub>O з одержанням проміжної сполуки 22 (620 мг, 35 %) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини.

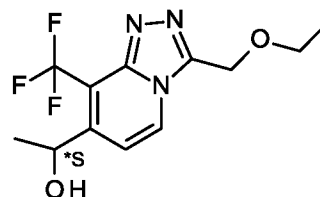
Наступні проміжні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною вказаній в описі 9.

| Проміжна сполука            | Вихідний матеріал   | Умови          |
|-----------------------------|---------------------|----------------|
| <p>Проміжна сполука 23</p>  | Проміжна сполука 19 | Процедура (b). |
| <p>Проміжна сполука 24a</p> | Проміжна сполука 20 | Процедура (b). |
| <p>Проміжна сполука 29</p>  | Проміжна сполука 28 | Процедура (b). |

- Проміжну сполуку 24a додатково розділяли на проміжну сполуку 24b і проміжну сполуку 24c:



Проміжна сполука 24b



Проміжна сполука 24c

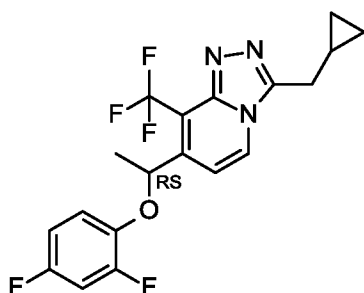
Умови хіральної SFC: Нерухома фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250\*30 мм; рухома фаза: 80 % CO<sub>2</sub>, 15 % EtOH.

Одержання кінцевих сполук формули (I-B)

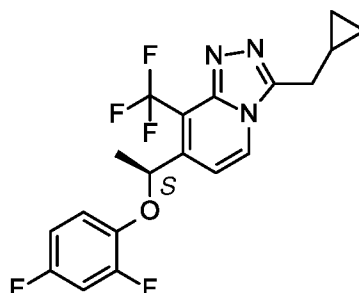
Приклад 1

(a) Синтез сполук 4-b, 6-b і 5-b

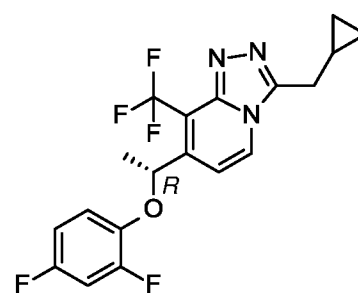
5



Сполука 4-b



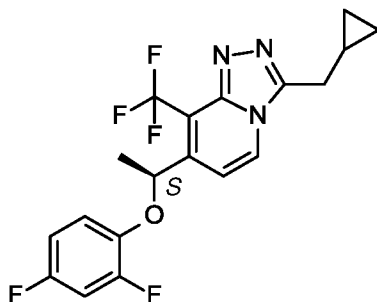
Сполука 6-b



Сполука 5-b

До перемішаного розчину проміжної сполуки 21a (2 г, 7,01 ммоль), 2,4-дифторфенолу (1,00 мл, 10,52 ммоль) і трифенілфосфіну (2,76 г, 10,52 ммоль) в THF (74,18 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (2,07 мл, 10,52 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 10 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою EtOAc і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 97/3). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Залишок розтирали в порошок з DIPE з одержанням сполуки 4-b (1,46 г, 52 %) у вигляді білої твердої речовини, яку очищували за допомогою хіральної SFC [нерухома фаза: Chiralpak AD (5 мкм, 250\*30 мм, рухома фаза: 85 % CO<sub>2</sub>, 15 % iPrOH)] з одержанням сполуки 6-b (0,659 г, 24 %) і сполуки 5-b (0,693 г, 25 %).

(b) Альтернативний синтез сполуки 6-b



Спол. № 6-b

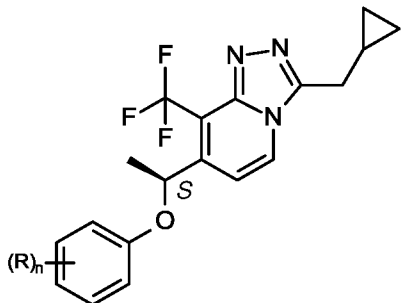
До перемішаного розчину проміжної сполуки 21b (30 мг, 0,11 ммоль), 2,4-дифторфенолу (15,07 мкл, 0,16 ммоль) і трифенілфосфіну (41,38 мг, 0,16 ммоль) в THF (1,11 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (31,06 мкл, 0,16 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 10 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою EtOAc і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 97/3). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Залишок розтирали в порошок з DIPE з одержанням сполуки 6-b (40 мг, 96 %) у вигляді білої твердої речовини.

(c) Синтез хлористоводневої солі (.HCl) сполуки 6-b

До перемішаного розчину проміжної сполуки 21b (200 мг, 0,70 ммоль), 2,4-дифторфенолу (100,45 мкл, 1,05 ммоль) і трифенілфосфіну (275,84 мг, 1,0516 ммоль) в THF (4 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (207,06 мкл, 1,05 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 15 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою EtOAc і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою RP HPLC (нерухома фаза: C18 XBridge, 30 × 100 мм, 5 мкм, рухома фаза: градієнт від 60 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH з pH 9 у воді, 40 % CH<sub>3</sub>CN до 43 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH з pH 9 у воді, 57 % CH<sub>3</sub>CN) з одержанням білого твердого залишку, який розчиняли в Et<sub>2</sub>O (8 мл) та 1,4-диоксані (0,5 мл). До одержаного таким чином розчину по краплям додавали HCl (4 М в

диоксані, 200 мкл). Білий твердий осад фільтрували, промивали за допомогою Et<sub>2</sub>O, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали під впливом вакууму. Одержаний таким чином білий залишок розтирали в порошок з Et<sub>2</sub>O з одержанням сполуки 6-b.HCl (110 мг, 36 %) у вигляді білої твердої речовини.

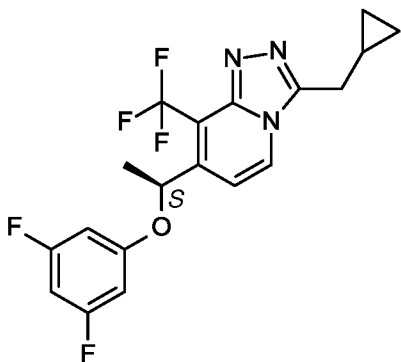
- 5 Наступні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(b), починаючи з проміжної сполуки 21b.



| № спол. |  | № спол. |  |
|---------|--|---------|--|
| 9-b     |  | 12-b    |  |
| 10-b    |  | 13-b    |  |
| 11-b    |  | 14-b    |  |

Приклад 2  
Синтез сполуки 7-b

10



Спол. № 7-b

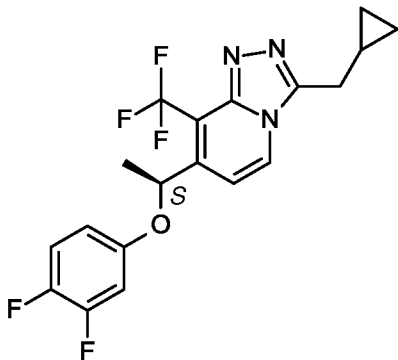
Процедура (а). До перемішаного розчину проміжної сполуки 21b (30 мг, 0,105 ммоль), 3,5-дифторфенолу (20,52 мг, 0,158 ммоль) і трифенілфосфіну (41,38 мг, 0,158 ммоль) в THF (1,113 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (31,06 мкл, 0,158 ммоль). Суміш

перемішували при 100°C протягом 10 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою EtOAc і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 96/4). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Залишок розтирали в порошок з DIPE з одержанням сполуки 7-b (21 мг, 50 %) у вигляді білої твердої речовини.

Процедура (b). Альтернативно, сполуку 7 також синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(b), починаючи з проміжної сполуки 21b.

Приклад 3

Синтез сполуки 8-b



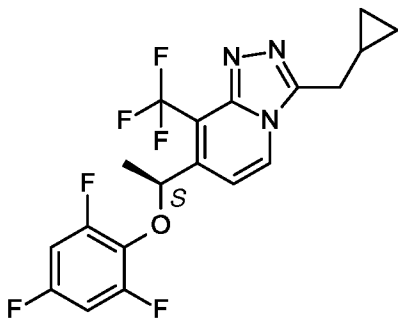
Спол. № 8-b

Процедура (a). До перемішаного розчину проміжної сполуки 21b (30 мг, 0,105 ммоль), 3,4-дифторфенолу (20,52 мг, 0,158 ммоль) і трифенілфосфіну (41,38 мг, 0,158 ммоль) в THF (1,11 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (31,06 мкл, 0,158 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 10 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою EtOAc і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 96/4). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Залишок розтирали в порошок з DIPE з одержанням сполуки 8-b (10,6 мг, 25 %) у вигляді білої твердої речовини.

Процедура (b). Альтернативно, сполуку 8-b також синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(b), починаючи з проміжної сполуки 21b.

Приклад 4

Синтез сполуки 15-b



Спол. № 15-b

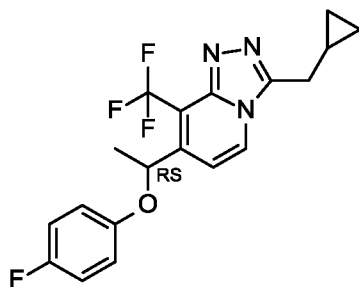
Процедура (a). До перемішаного розчину проміжної сполуки 21b (150 мг, 0,526 ммоль), 2,4,6-трифторфенолу (116,8 мг, 0,789 ммоль) і трифенілфосфіну (206,88 мг, 0,789 ммоль) в THF (5,56 мл) при 0°C і в атмосфері азоту по краплям додавали DIAD (155,3 мкл, 0,789 ммоль). Суміш перемішували при 100°C протягом 10 хвилин під впливом мікрохвильового випромінювання. Суміш розбавляли за допомогою DCM і промивали насич. розч. NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар відділяли, висушували (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрували і концентрували in vacuo, потім очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (сілікагель; MeOH/NH<sub>3</sub> 7 N в DCM від 0/100 до 90/10). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Проводили очищення за допомогою RP HPLC (нерухома фаза: C18 XBridge, 30 × 100 мм, 5 мкм, рухома фаза: градієнт від 54 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH з pH 9 у воді, 46 % CH<sub>3</sub>CN до 64 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH з pH 9 у воді, 36 % CH<sub>3</sub>CN) з одержанням безбарвного масла, яке кристалізувалося під час відстоювання (2 доби). Тверду речовину розтирали в порошок з гептаном з одержанням сполуки 15-b (129,8 мг, 59 %) у вигляді білої твердої речовини.

Процедура (b). Альтернативно, сполуку 15-b також синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(b), починаючи з проміжної сполуки 21b.

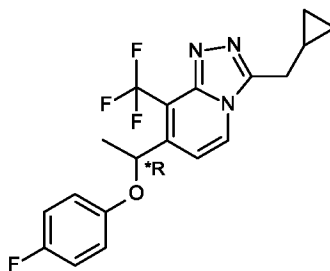
#### Приклад 5

Синтез сполук 1-b, 2-b і 3-b

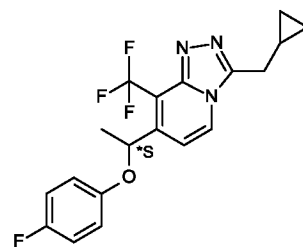
5



Сполука 1-b



Сполука 2-b

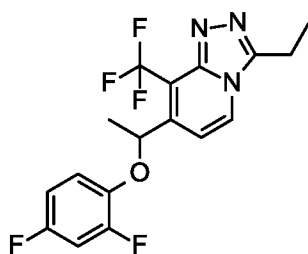


Сполука 3-b

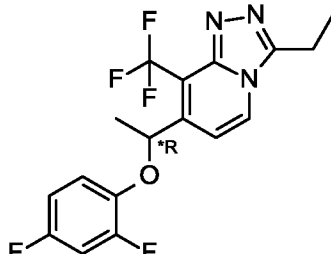
Сполуки 1-b, 2-b і 3-b синтезували згідно з процедурою, описаною в прикладі 1(a). Таким чином, в результаті реакції DIAD (500,05 мкл, 2,54 ммоль), проміжної сполуки 21a (483 мг, 1,69 ммоль), 4-фторфенолу (227,77 мг, 2,03 ммоль) і трифенілфосфіну (666,14 мг, 2,54 ммоль) в THF (17,91 мл), описаній в прикладі 1(a), одержували залишок, який очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; EtOAc в DCM від 0/100 до 90/10). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo. Одержаний в результаті залишок розтирали в порошок з DIPE з одержанням сполуки 1-b (320 мг, 50 %) у вигляді білої твердої речовини, яку очищували за допомогою хіральної SFC [нерухома фаза: Chiralpak AD (5 мкм, 250\*30 мм, рухома фаза: 77 % CO<sub>2</sub>, 23 % MeOH)] з одержанням сполуки 2-b (131 мг, 20 %) і сполуки 3-b (129 мг, 20 %) у вигляді білих твердих речовин.

#### Приклад 6

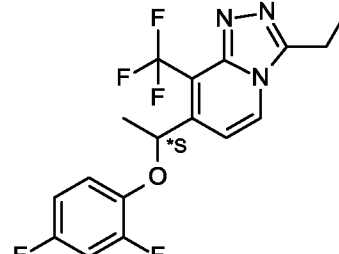
Синтез сполук 24-b, 26-b і 27-b



Сполука 24-b



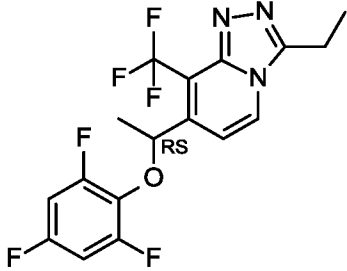
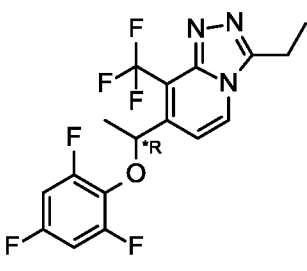
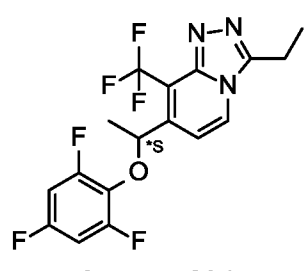
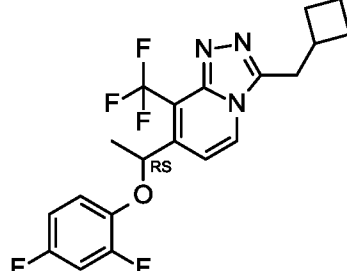
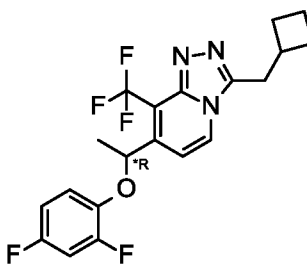
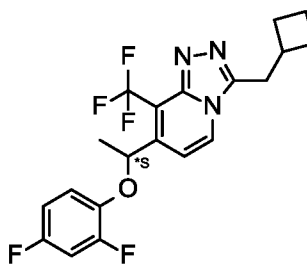
Сполука 26-b



Сполука 27-b

Сполуки 24-b, 26-b і 27-b синтезували згідно з процедурою, описаною в прикладі 1(a). Таким чином, в результаті реакції DIAD (364,57 мкл, 1,85 ммоль), проміжної сполуки 22 (320 мг, 1,23 ммоль), 2,4-дифторфенолу (176,86 мкл, 1,85 ммоль) і трифенілфосфіну (485,67 мг, 1,85 ммоль) в THF (13,06 мл), описаній в прикладі 1(a), одержували залишок, який очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (діоксид кремнію; MeOH в DCM від 0/100 до 96/4). Необхідні фракції збирали та концентрували in vacuo з одержанням безбарвного масла, яке кристалізувалося при використанні DIPE з одержанням сполуки 24 у вигляді білої твердої речовини, яку очищували за допомогою RP HPLC (нерухома фаза: C18 XBridge, 30 × 100 мм, 5 мкм, рухома фаза: градієнт від 54 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH з pH 9 у воді, 46 % CH<sub>3</sub>CN до 64 % 0,1 % розчину NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH при pH 9 у воді, 36 % CH<sub>3</sub>CN) з одержанням безбарвного масла, яке кристалізувалося при розтиранні в порошок з гептаном з одержанням 240 мг (52 %) сполуки 24-b у вигляді білої твердої речовини, яку потім очищували за допомогою хіральної SFC (нерухома фаза: CHIRALPAK AD-H, 5 мкм, 250 × 20 мм; рухома фаза: 85 % CO<sub>2</sub>, 15 % iPrOH (0,3 % iPrNH<sub>2</sub>)) з одержанням сполуки 26-b (103 мг, 22 %) і сполуки 27-b (107 мг, 23 %).

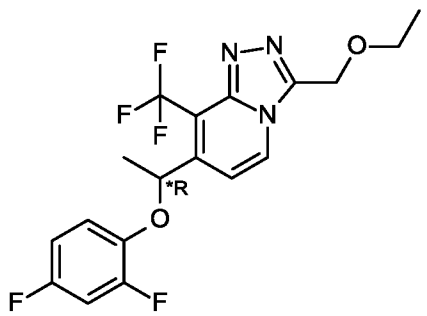
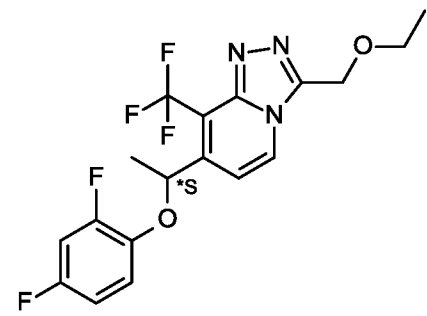
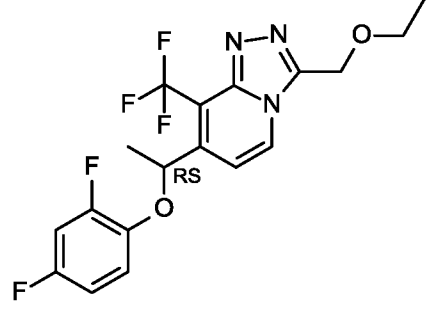
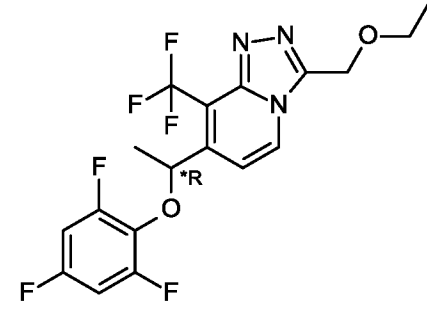
Наступні сполуки одержували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(a).

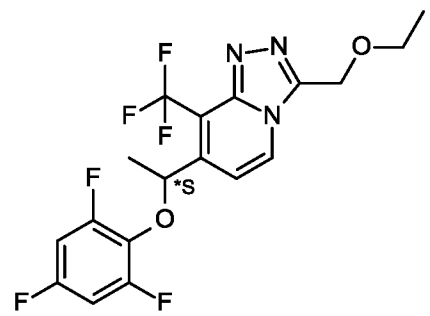
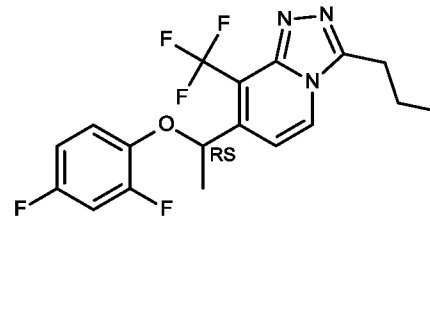
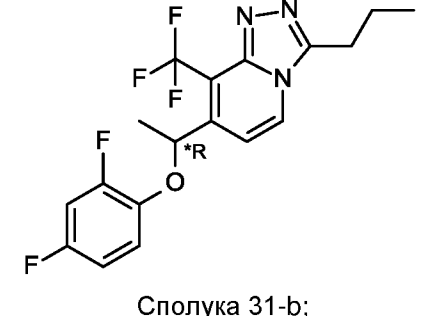
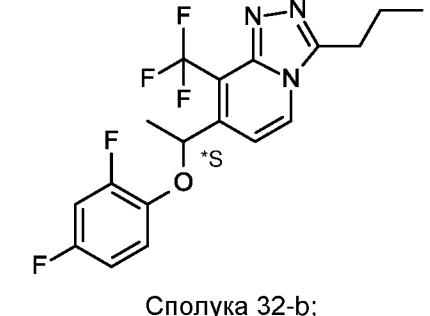
|                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                       |                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Сполука 25-b</p>                                                                                                                          |  <p>Сполука 28-b</p> |  <p>Сполука 29-b</p> |
| <p>Вихідний матеріал: Проміжна сполука 22</p> <p>Умови хіральної SFC: нерухома фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250 × 20 мм; рухома фаза: 85 % CO<sub>2</sub>, 15 % суміш EtOH/iPrOH, 50/50 об./об. (+0,3 % iPrNH<sub>2</sub>)</p> |                                                                                                       |                                                                                                         |
|  <p>Сполука 16-b</p>                                                                                                                          |  <p>Сполука 17-b</p> |  <p>Сполука 18-b</p> |

Вихідний матеріал: Проміжна сполука 23

Умови хіральної SFC: нерухома фаза: Chiralpak AD-H (5 мкм, 250\*30 мм); рухома фаза: 80 % CO<sub>2</sub>, 20 % суміш MeOH/iPrOH, 50/50 об./об. (+0,3 % iPrNH<sub>2</sub>)

Наступні сполуки синтезували згідно з послідовністю синтезу, аналогічною описаній в прикладі 1(b), починаючи із зазначених проміжних сполук.

|                                                                                                                                           |                                                                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Сполука 20-b; одержана з проміжної сполуки 24c</p> |  <p>Сполука 21-b; одержана з проміжної сполуки 24b</p> |
|  <p>Сполука 19-b; одержана з проміжної сполуки 24a</p> |  <p>Сполука 22-b; одержана з проміжної сполуки 24c</p> |

|                                                                                                                                         |                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Сполука 23-b; одержана з проміжної сполуки 24b</p> |  <p>Сполука 30-b; одержана з проміжної сполуки 29</p> |
|  <p>Сполука 31-b;</p>                                  |  <p>Сполука 32-b;</p>                                 |

Вихідний матеріал: Проміжна сполука 30

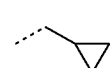
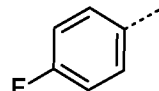
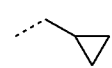
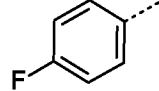
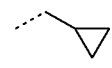
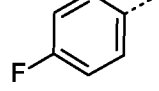
Умови хіральної SFC: нерухома фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250 × 20 мм; рухома фаза: 85 % CO<sub>2</sub>, 15 % iPrOH.

В таблиці А нижче перераховані додаткові сполуки формули (I-B), які одержували по аналогії з вищенаведеними прикладами (№ експ.).

Таблиця А.

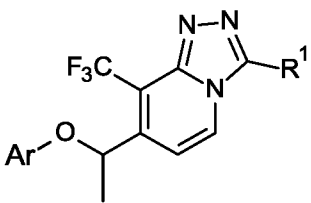
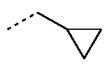
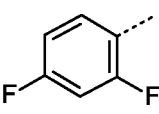
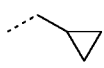
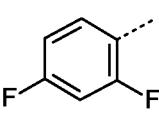
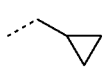
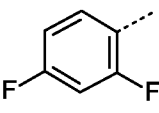
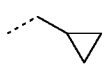
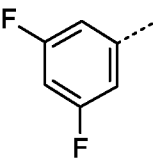
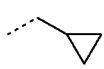
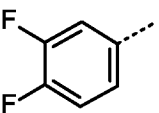
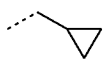
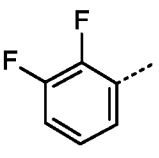
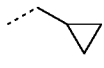
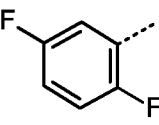
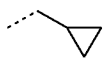
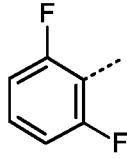
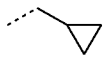
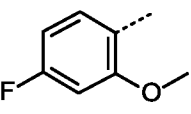
Типові сполуки формули (I-B)

# означає, що експериментальна процедура описана в прикладах.

| Спол. № | № експ.         | R <sup>1</sup>                                                                      | Ar                                                                                  | Стереохімічна конфігурація |
|---------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 1-b     | E5 <sup>#</sup> |  |  | RS                         |
| 2-b     | E5 <sup>#</sup> |  |  | *R                         |
| 3-b     | E5 <sup>#</sup> |  |  | *S                         |

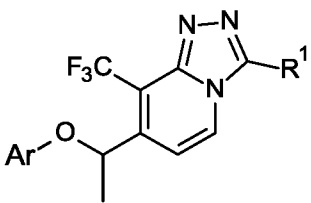
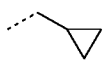
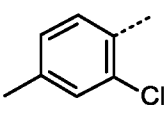
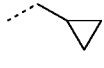
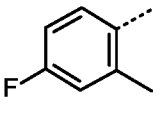
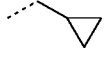
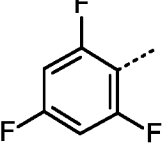
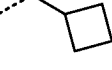
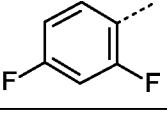
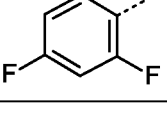
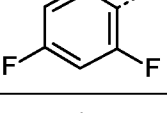
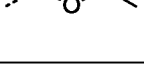
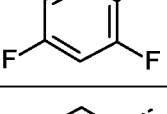
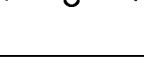
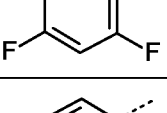
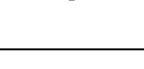
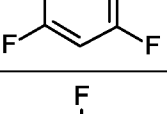
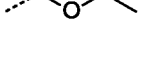
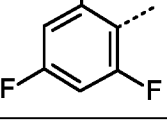
Типові сполуки формули (I-B)

# означає, що експериментальна процедура описана в прикладах.

|  |                          |                                                                                     |                                                                                     |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Спол. №                                                                           | № експ.                  | R <sup>1</sup>                                                                      | Ar                                                                                  | Сtereохімічна конфігурація |
| 4-b                                                                               | E1 <sup>#</sup>          |    |    | RS                         |
| 5-b                                                                               | E1 <sup>#</sup>          |    |    | R                          |
| 6-b                                                                               | E1(a) і (b) <sup>#</sup> |    |   | S                          |
| 6-b.HCl                                                                           | E1(c) <sup>#</sup>       |                                                                                     |                                                                                     |                            |
| 7-b                                                                               | E2 <sup>#</sup>          |  |  | S                          |
| 8-b                                                                               | E3 <sup>#</sup>          |  |  | S                          |
| 9-b                                                                               | E1(b)                    |  |  | S                          |
| 10-b                                                                              | E1(b)                    |  |  | S                          |
| 11-b                                                                              | E1(b)                    |  |  | S                          |
| 12-b                                                                              | E1(b)                    |  |  | S                          |

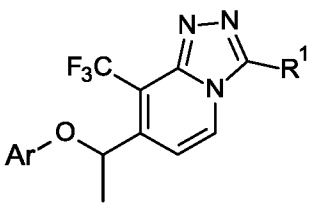
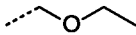
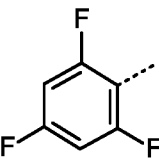
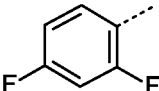
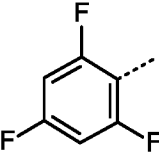
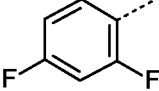
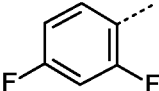
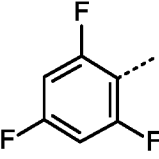
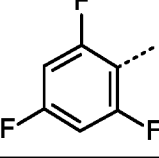
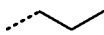
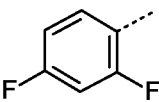
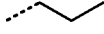
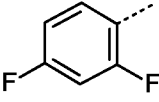
Таблиця А.

Типові сполуки формули (I-B)  
# означає, що експериментальна процедура описана в прикладах.

|  |                 |                                                                                     |                                                                                     |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Спол. №                                                                           | № експ.         | R <sup>1</sup>                                                                      | Ar                                                                                  | Сtereохімічна конфігурація |
| 13-b                                                                              | E1(b)           |    |    | S                          |
| 14-b                                                                              | E1(b)           |    |    | S                          |
| 15-b                                                                              | E4 <sup>#</sup> |   |   | S                          |
| 16-b                                                                              | E1(a)           |  |  | RS                         |
| 17-b                                                                              | E1(a)           |  |  | *R                         |
| 18-b                                                                              | E1(a)           |  |  | *S                         |
| 19-b                                                                              | E1(b)           |  |  | RS                         |
| 20-b                                                                              | E1(b)           |  |  | *R                         |
| 21-b                                                                              | E1(b)           |  |  | *S                         |
| 22-b                                                                              | E1(b)           |  |  | *R                         |

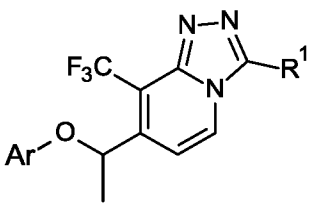
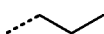
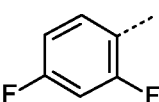
Таблиця А.

Типові сполуки формули (I-B)  
# означає, що експериментальна процедура описана в прикладах.

|  |                 |                                                                                     |                                                                                     |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Спол. №                                                                           | № експ.         | R <sup>1</sup>                                                                      | Ar                                                                                  | Сtereохімічна конфігурація |
| 23-b                                                                              | E1(b)           |    |    | *S                         |
| 24-b                                                                              | E6 <sup>#</sup> |    |    | RS                         |
| 25-b                                                                              | E1(a)           |  |   | RS                         |
| 26-b                                                                              | E6 <sup>#</sup> |  |  | *R                         |
| 27-b                                                                              | E6 <sup>#</sup> |  |  | *S                         |
| 28-b                                                                              | E1(a)           |  |  | *R                         |
| 29-b                                                                              | E1(a)           |  |  | *S                         |
| 30-b                                                                              | E1(b)           |  |  | RS                         |
| 31-b                                                                              | E1(b)           |  |  | *R                         |

## Типові сполуки формули (I-B)

# означає, що експериментальна процедура описана в прикладах.

|  |         |                                                                                   |                                                                                   |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Спол. №                                                                           | № експ. | R <sup>1</sup>                                                                    | Ar                                                                                | Стереохімічна конфігурація |
| 32-b                                                                              | E1(b)   |  |  | *S                         |

## Аналітична частина

## Оптичне обертання

Оптичне обертання вимірювали на поляриметрі Perkin-Elmer 341 з натрієвою лампою і виражали наступним чином:  $[\alpha]_D^{25}$  (λ, с г/100 мл, розчинник, Т°С).

5  $[\alpha]_D^{25} = (100\alpha)/(l \times c)$ : де l означає довжину пробігу в дм, а c означає концентрацію в г/100 мл для зразка при температурі Т (°С) і довжині хвилі λ (в нм). Якщо довжина хвилі світла, що застосовується, становить 589 нм (D-лінія натрію), то замість цього можна застосовувати символ D. Завжди необхідно наводити знак напрямку обертання (+ або -). У випадку застосування даного рівняння концентрацію і розчинник завжди наводять в круглих дужках після кута обертання. Кут обертання зазначають в градусах, а одиниці концентрації не наводять (вважають, що вони являють собою г/100 мл).

## LCMS

15 Для одержання характеристик сполук за даним винаходом за допомогою (LC)MS використовували наступні способи.

## Загальна процедура

20 Вимірювання під час вискоєфективної рідкої хроматографії (HPLC) проводили за допомогою насоса для LC, детектора на діодній матриці (DAD) або UV-детектора та колонки, як описано у відповідних способах. За необхідності включали додаткові детектори (див. наведену нижче таблицю способів).

25 Потік із колонки спрямовували до мас-спектрометра (MS), який був оснащений джерелом іонізації при атмосферному тиску. У компетенції фахівця в даній галузі є установка параметрів для налаштування (наприклад, діапазону сканування, мінімального часу вимірювання тощо) для одержання іонів, що забезпечують визначення номінальної моноізотопної молекулярної ваги (MW) сполуки. Збір даних проводили за допомогою відповідного програмного забезпечення.

30 Сполуки описані за їхнім експериментальним часом утримування (R<sub>i</sub>) та іонами. Якщо не вказано інше, у таблиці даних вказаний молекулярний іон являє собою [M+H]<sup>+</sup> (протоновану молекулу) та/або [M-H]<sup>-</sup> (депротоновану молекулу). У випадку, якщо сполука не була безпосередньо здатна до іонізації, вказують тип аддукту (тобто [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, [M+HCOO]<sup>-</sup> тощо). Для молекул зі складними ізотопними розподіленнями (Br, Cl тощо) описане значення є таким, яке одержане для найменшої ізотопної ваги. Усі результати одержували з експериментальними похибками, що зазвичай пов'язані зі способом, що застосовується.

35 Нижче в даному документі "SQD" означає одиночний квадрупольний детектор, "RT" означає кімнатну температуру, "BEH" означає містковий гібрид етилсилоксан/діоксид кремнію, "HSS" означає діоксид кремнію підвищеної міцності, "DAD" означає детектор на діодній матриці.

Таблиця В

Коди способів LCMS (потік виражений в мл/хв; температура колонки (Т) в °С;  
час аналізу в хвиликах)

| Прилад                                                    | Колонка                                                           | Рухома фаза                                                                                             | Градiєнт                                                                                                                                                                             | Потік<br>-----<br>Т<br>колонки | Час<br>аналізу | LCMS<br>Спосіб |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------|----------------|
| Waters:<br>Acquity®<br>UPLC® - DAD<br>та SQD              | Agilent: Eclipse<br>Plus C18<br>RRHD (1,8<br>мкм, 2,1 × 50<br>мм) | A: 95 % 6,5 мМ<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> +5 %<br>CH <sub>3</sub> CN, В: CH <sub>3</sub> CN  | Від 95 % А до<br>5 % А за 4,6<br>хв.,<br>утримування<br>протягом 0,4<br>хв.                                                                                                          | 1<br>-----<br>50               | 5              | 1              |
| Waters:<br>Acquity®<br>UPLC®<br>DAD та SQD                | Waters: CSH™<br>C18 (1,7 мкм,<br>2,1 × 50 мм)                     | A: 95 % 6,5 мМ<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> +5 %<br>CH <sub>3</sub> CN, В: CH <sub>3</sub> CN  | Від 95 % А до<br>5 % А за 4,6<br>хв.,<br>утримування<br>протягом 0,4<br>хв.                                                                                                          | 1<br>-----<br>50               | 5              | 2              |
| Waters:<br>Acquity<br>UPLC® - DAD<br>та Quattro<br>Micro™ | Waters: BEH<br>C18 (1,7 мкм,<br>2,1 × 100 мм)                     | A: 95 % 7 мМ<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> /5 %<br>CH <sub>3</sub> CN,<br>В: CH <sub>3</sub> CN | Від 84,2 % А<br>протягом 0,49<br>хв. до 10,5 % А<br>за 2,18 хв.,<br>утримування<br>протягом 1,94<br>хв., назад до<br>84,2 % А за<br>0,73 хв.,<br>утримування<br>протягом 0,73<br>хв. | 0,343<br>-----<br>40           | 6,2            | 3              |
| Waters:<br>Acquity®<br>UPLC® - DAD<br>та SQD              | Waters: CSH™<br>C18 (1,7 мкм,<br>2,1 × 50 мм)                     | A: 95 % 6,5 мМ<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> +5 %<br>CH <sub>3</sub> CN, В: CH <sub>3</sub> CN  | Від 95 % А до<br>5 % А за 7,8<br>хв.,<br>утримування<br>протягом 1,2<br>хв.                                                                                                          | 1<br>-----<br>50               | 9              | 4              |

#### Температури плавлення

Значення являють собою пікові значення, та їх одержують з експериментальними похибками, які зазвичай пов'язані з даним аналітичним способом.

Прилад Mettler FP 81HT/FP90

Для ряду сполук температури плавлення визначали у відкритих капілярних трубках на приладі FP 81HT/FP90 (Mettler-Toledo). Температури плавлення вимірювали при градієнті температури 1, 3, 5 або 10 °С/хвилина. Максимальна температура становила 300 °С. Температуру плавлення зчитували з цифрового дисплея.

Таблиця С

Фізико-хімічні дані для деяких сполук, час утримування ( $R_t$ ) в хв., пік, який відповідає  $[M+H]^+$  (протонована молекула), спосіб LCMS і т. пл. (температура плавлення в °C). (н. в. = не визначено).

| Спол. № | Т. пл. (°C) | $R_t$ (хв.) | $[M+H]^+$ | Спосіб LCMS | Оптичне обертання                               |
|---------|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------------------------------------------|
| 1-b     | 156,3       | 2,32        | 380       | 1           |                                                 |
| 2-b     | 176,9       | 2,93        | 380       | 3           | -58,5° (589 нМ, с 0,53 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |
| 3-b     | 177,3       | 2,93        | 380       | 3           | +59,4° (589 нМ, с 0,52 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |
| 4-b     | 121,7       | 2,41        | 398       | 1           |                                                 |
| 5-b     | 142         | 2,99        | 398,3     | 3           | +95,7° (589 нМ, с 0,69 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |
| 6-b     | 142,4       | 2,99        | 398,2     | 3           | -95,4° (589 нМ, с 0,7 ваг./об. %, DMF, 20 °C)   |
| 7-b     | 170,08      | 2,37        | 398       | 2           | -55,7° (589 нМ, с 0,96 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |
| 8-b     | н. в.       | 2,32        | 398       | 2           | н. в.                                           |
| 9-b     | н. в.       | 2,32        | 398       | 2           | н. в.                                           |
| 10-b    | н. в.       | 2,25        | 398       | 2           | н. в.                                           |
| 11-b    | н. в.       | 2,28        | 398       | 2           | н. в.                                           |
| 12-b    | н. в.       | 2,16        | 410       | 2           | н. в.                                           |
| 13-b    | 144,1       | 2,68        | 410       | 2           | н. в.                                           |
| 14-b    | 161,7       | 2,51        | 394       | 2           | н. в.                                           |
| 15-b    | 80,3        | 2,37        | 416       | 2           | -167,0° (589 нМ, с 0,55 ваг./об. %, DMF, 20 °C) |
| 16-b    | н. в.       | 2,50        | 412       | 2           | н. в.                                           |
| 17-b    | н. в.       | 3,12        | 412       | 3           | н. в.                                           |
| 18-b    | н. в.       | 3,12        | 412       | 3           | н. в.                                           |
| 19-b    | н. в.       | 2,39        | 402       | 2           | н. в.                                           |
| 20-b    | н. в.       | 2,3         | 402       | 2           | н. в.                                           |
| 21-b    | н. в.       | 3,36        | 402       |             | н. в.                                           |
| 22-b    | н. в.       | 2,35        | 420       | 2           | н. в.                                           |
| 23-b    | н. в.       | 2,35        | 420       | 2           | н. в.                                           |
| 24-b    | 135,7       | 2,05        | 372       | 2           | н. в.                                           |
| 25-b    | 138,3       | 2,13        | 390       | 2           | н. в.                                           |
| 26-b    | н. в.       | 2,80        | 372       | 3           | -83,9° (589 нМ, с 0,52 ваг./об. %, DMF, 25 °C)  |
| 27-b    | н. в.       | 2,80        | 372       | 3           | +92,1° (589 нМ, с 0,55 ваг./об. %, DMF, 25 °C)  |
| 28-b    | н. в.       | 2,85        | 390       | 3           | -129,2° (589 нМ, с 0,5 ваг./об. %, DMF, 25 °C)  |
| 29-b    | н. в.       | 2,85        | 390       | 3           | +137,3° (589 нМ, с 0,51 ваг./об. %, DMF, 25 °C) |
| 30-b    | 130,6       | 2,29        | 386       | 2           | н. в.                                           |
| 31-b    | 127,85      | 2,29        | 386       | 2           | -67,5° (589 нМ, с 0,83 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |
| 32-b    | 127,69      | 2,29        | 386       | 2           | +89,5° (589 нМ, с 0,83 ваг./об. %, DMF, 20 °C)  |

## SFC-MS

## Загальна процедура

- 5 Вимірювання під час SFC проводили із застосуванням аналітичної системи від Berger instrument, яка містить гідралічний модуль керування насосом для двокомпонентних сумішей FCM-1200 для доставки діоксиду вуглецю (CO<sub>2</sub>) і модифікатора, автоматичний пробовідбірник

для рідин CTC Analytics, модуль контролю температури TCM-20000 для нагрівання колонки від кімнатної температури до 80 °С. Використовували УФ-детектор на фотодіодній матриці Agilent 1100, обладнаний проточною кюветою для роботи під високим тиском, яка витримує тиск до 400 бар. Потік з колонки розділяли для MS-спектрометра. MS-детектор був обладнаний джерелом іонізації при атмосферному тиску. Параметри іонізації для мас-спектрофотометра Waters ZQ є наступними: сила струму коронного розряду: 9 мкА, температура джерела: 140 °С, напруга на конусі: 30 В, температура зонда 450 °С, напруга на екстракторі 3 В, швидкість потоку газу для десольватації 400 л/год., швидкість потоку газу через конус 70 л/год. Як газ-розпилювач застосовували азот. Збір і обробку даних проводили за допомогою системи збору і обробки даних MassLynx-Openlynx від Waters-Micromass.

Спосіб 1: додатково до загальної процедури: аналітичне хіральне розділення протягом SFC-MS проводили на колонці CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6 × 250 мм) при 35°C зі швидкістю потоку 3,0 мл/хв. Рухома фаза являє собою 85 % CO<sub>2</sub>, 15 % iPrOH (+ 0,3 % iPrNH<sub>2</sub>) з утриманням протягом 7 хв. в ізократичному режимі.

Спосіб 2: додатково до загальної процедури: аналітичне хіральне розділення протягом SFC-MS проводили на колонці CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6 × 250 мм) при 35°C зі швидкістю потоку 3,0 мл/хв. Рухома фаза являє собою 75 % CO<sub>2</sub>, 15 % iPrOH (+ 0,3 % iPrNH<sub>2</sub>) з утриманням протягом 7 хв. в ізократичному режимі.

Спосіб 3: додатково до загальної процедури: аналітичне хіральне розділення протягом SFC-MS проводили на колонці CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6 × 250 мм) при 35°C зі швидкістю потоку 3,0 мл/хв. Рухома фаза являє собою 80 % CO<sub>2</sub>, 10 % метанол + 10 % iPrOH (+ 0,3 % iPrNH<sub>2</sub>) при витриманні протягом 7 хв. в ізократичному режимі.

Аналітичні дані SFC-R<sub>t</sub> означає час утримування (в хвиликах), [M+H]<sup>+</sup> означає вагу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, що використовується для аналізу енантіомерно чистих сполук за допомогою SFC/MS. Вимірювання порівнювали із сумішшю

Таблица D

|  | № спол. | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | % площі по<br>УФ | Спосіб | Порядок<br>елюювання<br>ізомерів* |
|--|---------|----------------|--------------------|------------------|--------|-----------------------------------|
|  | 6-b     | 4,28           | 398                | 100              | 1      | A                                 |
|  | 5-b     | 5,98           | 398                | 100              | 1      | B                                 |
|  | 2-b     | 2,13           | 380                | 100              | 2      | A                                 |
|  | 3-b     | 2,97           | 380                | 100              | 2      | B                                 |
|  | 17-b    | 2,46           | 412                | 100              | 3      | A                                 |
|  | 18-b    | 3,12           | 412                | 100              | 3      | B                                 |
|  | 31-b    | 2,93           | 386                | 100              | 1      | A                                 |
|  | 32-b    | 3,81           | 386                | 100              | 1      | B                                 |

\*А означає, що елюється перший ізомер. В означає, що елюється другий ізомер.

#### Ядерний магнітний резонанс (ЯМР)

Для ряду сполук <sup>1</sup>H-ЯМР-спектри реєстрували на спектрометрах Bruker DPX-400 або Bruker AV-500 зі стандартними послідовностями імпульсів, які експлуатували при 400 МГц і 500 МГц відповідно. Хімічні зсуви (δ) зазначали в частинах на мільйон (ppm) для слабкопольного зсуву від тетраметилсилану (TMS), який використовували як внутрішній стандарт.

Спол. № 6-b: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0,30-0,38 (m, 2 H), 0,59-0,68 (m, 2 H), 1,14-1,22 (m, 1 H), 1,72 (d, J=6,5 Гц, 3 H), 3,02-3,14 (m, 2 H), 5,84 (q, J=6,3 Гц, 1 H), 6,67-6,73 (m, 1 H), 6,80-6,89 (m, 2 H), 7,30 (d, J=7,4 Гц, 1 H), 8,11 (d, J=7,4 Гц, 1 H)

Спол. № 7-b: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0,30-0,39 (m, 2 H), 0,59-0,68 (m, 2 H), 1,11-1,23 (m, 1 H), 1,70 (d, J=6,5 Гц, 3 H), 3,01-3,14 (m, 2 H), 5,83 (q, J=6,2 Гц, 1 H), 6,35-6,45 (m, 3 H), 7,13 (d, J=7,2 Гц, 1 H), 8,08 (d, J=7,4 Гц, 1 H)

Спол. № 8-b: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 0,30-0,38 (m, 2 H), 0,58-0,68 (m, 2 H), 1,11-1,22 (m, 1 H), 1,69 (d, J=6,2 Гц, 3 H), 3,01-3,13 (m, 2 H), 5,79 (q, J=6,2 Гц, 1 H), 6,53 (dtd, J=9,2, 3,1, 3,1, 1,7 Гц, 1 H), 6,72 (ddd, J=11,6, 6,5, 3,1 Гц, 1 H), 6,95-7,04 (m, 1 H), 7,15 (d, J=7,4 Гц, 1 H), 8,07 (d, J=7,4 Гц, 1 H)

Спол. № 15-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 0,30-0,41 (m, 2 H), 0,59-0,71 (m, 2 H), 1,16-1,25 (m, 1 H), 1,70 (d,  $J=6,4$  Гц, 3 H), 3,05-3,16 (m, 2 H), 5,80 (q,  $J=6,4$  Гц, 1 H), 6,62-6,70 (m, 2 H), 7,45 (d,  $J=7,5$  Гц, 1 H), 8,16 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H)

5 Спол. № 13-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 0,27-0,39 (m, 2 H), 0,58-0,67 (m, 2 H), 1,12-1,21 (m, 1 H), 1,73 (d,  $J=6,4$  Гц, 3 H), 2,22 (s, 3 H), 3,06 (qd,  $J=15,4, 6,6$  Гц, 2 H), 5,92 (q,  $J=6,4$  Гц, 1 H), 6,71 (d,  $J=8,4$  Гц, 1 H), 6,89 (dd,  $J=8,4, 1,4$  Гц, 1 H), 7,18 (d,  $J=1,7$  Гц, 1 H), 7,32 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H), 8,07 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H)

10 Спол. № 14-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 0,28-0,39 (m, 2 H), 0,57-0,69 (m, 2 H), 1,12-1,21 (m, 1 H), 1,70 (d,  $J=6,6$  Гц, 3 H), 2,31 (s, 3 H), 3,01-3,12 (m, 2 H), 5,79 (q,  $J=6,6$  Гц, 1 H), 6,55 (dd,  $J=9,0, 4,3$  Гц, 1 H), 6,69 (td,  $J=8,5, 3,0$  Гц, 1 H), 6,87 (dd,  $J=9,0, 2,9$  Гц, 1 H), 7,17 (d,  $J=7,5$  Гц, 1 H), 8,06 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H)

Спол. № 20-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,22 (t,  $J=7,1$  Гц, 3 H), 1,72 (d,  $J=6,4$  Гц, 3 H), 3,58 (q,  $J=7,1$  Гц, 2 H), 5,03-5,10 (m, 2 H), 5,84 (q,  $J=6,5$  Гц, 1 H), 6,67-6,74 (m, 1 H), 6,81-6,88 (m, 2 H), 7,34 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H), 8,40 (d,  $J=7,5$  Гц, 1 H)

15 Спол. № 22-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,23 (t,  $J=6,9$  Гц, 3 H), 1,70 (d,  $J=6,4$  Гц, 3 H), 3,58 (q,  $J=7,0$  Гц, 2 H), 5,05-5,12 (m, 2 H), 5,81 (q,  $J=6,6$  Гц, 1 H), 6,62-6,70 (m, 2 H), 7,48 (d,  $J=7,5$  Гц, 1 H), 8,45 (d,  $J=7,2$  Гц, 1 H)

20 Спол. № 31-b:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,07 (t,  $J=7,40$  Гц, 3 H) 1,72 (d,  $J=6,24$  Гц, 3 H) 1,92 (sxt,  $J=7,63$  Гц, 2 H) 2,98-3,14 (m, 2 H) 5,84 (q,  $J=6,47$  Гц, 1 H) 6,65-6,74 (m, 1 H) 6,78-6,89 (m, 2 H) 7,29 (d,  $J=7,40$  Гц, 1 H) 8,02 (d,  $J=7,40$  Гц, 1 H).

In vitro тестування сполук формули (I-B)

25 Сполуки формули (I-B), представлені в даному винаході, є позитивними алостеричними модуляторами mGluR2. Дані сполуки, ймовірно, підсилюють відповіді на глутамат шляхом зв'язування з алостеричною ділянкою, яка відмінна від глутамат-зв'язувальної ділянки. У випадку присутності сполук формули (I-B) відповідь mGluR2 на концентрацію глутамату підсилюється. Передбачається, що сполуки формули (I-B) спричиняють свій ефект головним чином на mGluR2 завдяки своїй здатності до посилення функції рецептора. Ефекти позитивних алостеричних модуляторів, які тестували щодо mGluR2 з використанням способу аналізу зв'язування  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S, описаного нижче, який підходить для ідентифікації таких сполук, і більш конкретно, сполук формули (I-B), показані в таблиці Е.

Аналіз зв'язування  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S

35 Аналіз зв'язування  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S являє собою функціональний аналіз із застосуванням мембран, що використовується для дослідження функції рецепторів, спряжених з G-білком (GPCR), за допомогою якого вимірюють включення форми GTP, що не гідролізується,  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S (гуанозин-5'-трифосфату, міченого гамма-випромінювальним  $^{35}\text{S}$ ).  $\alpha$ -Субодиниця G-білка каталізує обмін гуанозин-5'-дифосфату (GDP) на гуанозинтрифосфат (GTP), і під час активації GPCR агоністом відбувається включення  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S, який не може бути розщепленим для продовження циклу обміну (Harper (1998) Current Protocols in Pharmacology 2.6.1-10, John Wiley & Sons, Inc.). Кількість включеного радіоактивного  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S є безпосереднім критерієм активності G-білка і внаслідок цього можна визначити активність агоніста. Показано, що рецептори mGlu2 переважно спряжені з G $\alpha$ i-білком, що являє собою переважне спряження для даного способу і внаслідок цього він широко застосовується для дослідження рецепторної активації рецепторів mGlu2 як в рекомбінантних лініях клітин, так і в тканинах. В даному документі описано застосування аналізу зв'язування  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S з використанням мембран клітин, трансфектованих рецептором mGlu2 людини, на основі матеріалів Schaffhauser et al. (Molecular Pharmacology, 2003, 4:798-810) для виявлення властивостей позитивного алостеричного модулювання (NAM) у сполук за даним винаходом.

Одержання мембран

50 Клітини CHO культивували до передконфлюєнтності і стимулювали 5 мМ бутиратом протягом 24 год. Потім клітини збирали шляхом зіскрябування в PBS, і суспензію клітин центрифугували (10 хв. при 4000 об./хв. в настільній центрифугі). Надосадову рідину зливали, і осад обережно ресуспендували в 50 мМ Tris-HCl, pH 7,4, шляхом перемішування за допомогою вортексу та набирання в піпетку і випускання з піпетки. Суспензію центрифугували при 16000 об./хв. (Sorvall RC-5C Plus з ротором SS-34) протягом 10 хвилин і зливали надосадову рідину. 55 Осад гомогенізували в 5 мМ Tris-HCl, pH 7,4, за допомогою гомогенізатора Ultra Turrax і знову центрифугували (18000 об./хв., 20 хв., 4 °C). Кінцевий осад повторно суспендували в 50 мМ Tris-HCl, pH 7,4, і зберігали при -80 °C у відповідних аліквотах до застосування. Концентрацію білка визначали за способом Бредфорда (Bio-Rad, США) з використанням бичачого сироваткового альбуміну як стандарту.

60 Аналіз зв'язування  $^{35}\text{S}$  GTP $\gamma$ S

Вимірювання активності позитивного алостеричного модулювання mGluR2 у тестових сполук проводили наступним чином. Тестові сполуки і глутамат розбавляли в аналітичному буфері, який містить 10 mM HEPES у формі кислоти, 10 mM HEPES у формі солі, pH 7,4, 100 mM NaCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub> і 10 мкМ GDP. Мембрани, які містять рецептор mGlu2 людини, розморожували на льоду і розбавляли аналітичним буфером, доповненим 14 мкг/мл сапоніну. Мембрани попередньо інкубували зі сполукою окремо або разом з глутаматом в попередньо визначеній (~EC<sub>20</sub>) концентрації (аналіз PAM) протягом 30 хв. при 30°C. Після додавання [<sup>35</sup>S]GTPγS (кінцева концентрація 0,1 nM) аналітичні суміші струшували протягом короткого періоду і додатково інкубували для забезпечення включення [<sup>35</sup>S]GTPγS при активації (30 хвилин, 30 °C). Кінцеві аналітичні суміші містили 7 мкг мембранного білка в 10 mM HEPES у формі кислоти, 10 mM HEPES у формі солі, pH 7,4, 100 mM NaCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 мкМ GDP і 2 мкг/мл сапоніну. Загальний обсяг реакційної суміші становив 200 мкл. Реакції зупиняли шляхом швидкої фільтрації через планшети Unifilter-96 GF/B (Perkin Elmer, Масачусетс, США) за допомогою універсального колектора FilterMate для 96-лункових планшетів. Фільтри 6 разів промивали льодяною сумішшю 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,4. Потім фільтри висушували на повітрі і в кожну лунку додавали 40 мкл рідкого сцинтиляційного коктейлю (Microscint-O). Радіоактивність мембранозв'язаних комплексів підраховували в сцинтиляційному і люмінесцентному лічильниках для мікропланшетів від Perkin Elmer.

#### Аналіз даних

Побудову кривих залежності концентрація-відповідь для ілюстративних сполук за даним винаходом, отримуваних за присутності EC<sub>20</sub> агоніста mGluR2 глутамату, для визначення позитивного алостеричного модулювання (PAM) здійснювали за допомогою програмного інтерфейсу Lexis (розробленого в J&J). Розрахунок даних здійснювали у вигляді % від контрольної відповіді на глутамат, яка визначається як максимальна відповідь, що викликається при додаванні глутамату окремо. Сигмоїдальні криві залежності концентрація-відповідь, побудовані шляхом відкладання цих відсоткових значень в залежності від логарифму концентрації тестової сполуки, аналізували за допомогою нелінійного регресійного аналізу. Потім розраховували концентрацію, яка викликає напівмаксимальний ефект, у вигляді EC<sub>50</sub>.

Наведені нижче значення pEC<sub>50</sub> розраховували у вигляді -log EC<sub>50</sub>, якщо EC<sub>50</sub> виражали в М. E<sub>max</sub> визначали як відносний максимальний ефект (тобто максимальний % ефекту у порівнянні з контрольною відповіддю на глутамат).

В таблиці Е нижче показані фармакологічні дані, одержані для сполук формули (I-B), та поточні фармакологічні дані, одержані для сполук формул (I) та (I-A).

Таблиця Е

Фармакологічні дані для сполук за даним винаходом

| № спол. | GTPγS-pEC <sub>50</sub> PAM<br>hmGluR2 | GTPγS-E <sub>max</sub> PAM hmGluR2 |
|---------|----------------------------------------|------------------------------------|
| 1-b     | 6,59                                   | 296                                |
| 2-b     | 6,84                                   | 228                                |
| 3-b     | 5,79                                   | 187                                |
| 6-b     | 7,39                                   | 256                                |
| 5-b     | 6,06                                   | 141                                |
| 4-b     | 7,04                                   | 329                                |
| 7-b     | 7,31                                   | 292                                |
| 8-b     | 7,04                                   | 244                                |
| 9-b     | 7,3                                    | 260                                |
| 10-b    | 7,47                                   | 218                                |
| 11-b    | 8,25                                   | 239                                |
| 12-b    | 6,99                                   | 178                                |
| 16-b    | 7,54                                   | 284                                |
| 13-b    | 7,75                                   | 280                                |
| 14-b    | 7,53                                   | 281                                |
| 15-b    | 8,16                                   | 293                                |
| 19-b    | 6,71                                   | 297                                |
| 25-b    | 6,9                                    | 233                                |
| 24-b    | 6,42                                   | 193                                |

## Фармакологічні дані для сполук за даним винаходом

| № спол. | GTPγS-pEC <sub>50</sub> PAM hmGluR2 | GTPγS-E <sub>max</sub> PAM hmGluR2 |
|---------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 17-b    | 7,73                                | 317                                |
| 18-b    | 6,24                                | 213                                |
| 22-b    | 7,61                                | 325                                |
| 23-b    | 5,94                                | 167                                |
| 21-b    | 6,32                                | 102                                |
| 20-b    | 7,07                                | 332                                |
| 26-b    | 6,78                                | 214                                |
| 27-b    | n.c.                                | 51                                 |
| 30-b    | 6,9                                 | 227                                |
| 28-b    | 7,19                                | 234                                |
| 29-b    | 5,85                                | 77                                 |
| 31-b    | 7,05                                | 251                                |
| 32-b    | 5,71                                | 116                                |
| 1       | 7,11                                | 258                                |
| 1a      | 6,95                                | 286                                |
| 2       | 7,82                                | 290                                |
| 2a      | 7,61                                | 484                                |
| 3       | 7,55                                | 212                                |
| 4       | 6,88                                | 260                                |
| 5       | 6,26                                | 231                                |
| 6       | 7,79                                | 263                                |
| 6a      | 7,68                                | 261                                |
| 7       | 8,45                                | 263                                |
| 8       | 6,73                                | 360                                |
| 9       | 6,9                                 | 462                                |
| 10      | 7,21                                | 357                                |
| 11      | 6,94                                | 310                                |
| 12      | 8,36                                | 261                                |
| 13      | 6,9                                 | 278                                |
| 1-a     | 6,78                                | 314                                |
| 2-a     | 6,84                                | 340                                |
| 3-a     | 6,88                                | 231                                |
| 4-a     | 6,6                                 | 269                                |
| 5-a     | n.t.                                |                                    |
| 6-a     | 6,34                                | 255                                |
| 7-a     | 6,64                                | 291                                |
| 8-a     | 6,04                                | 157                                |
| 9-a     | 6,59                                | 222                                |
| 10-a    | 6,88                                | 290                                |
| 11-a    | 7,11                                | 249                                |
| 12-a    | 7,03                                | 242                                |
| 13-a    | 6,67                                | 212                                |
| 14-a    | 6,92                                | 259                                |
| 15-a    | 7                                   | 253                                |
| 16-a    | 7,12                                | 223                                |
| 17-a    | 6,54                                | 261                                |
| 18-a    | n.t.                                |                                    |
| 19-a    | 6,71                                | 240                                |
| 20-a    | 6,91                                | 243                                |
| 21-a    | 6,25                                | 207                                |
| 22-a    | 6,05                                | 259                                |
| 23-a    | 6,58                                | 203                                |

## Фармакологічні дані для сполук за даним винаходом

| № спол. | GTPyS-pEC <sub>50</sub> PAM hmGluR2 | GTPyS-E <sub>max</sub> PAM hmGluR2 |
|---------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 24-а    | 6,91                                | 258                                |
| 25-а    | 7,07                                | 261                                |
| 26-а    | 6,5                                 | 248                                |
| 27-а    | 6,48                                | 284                                |
| 28-а    | 6,96                                | 297                                |
| 29-а    | 6,97                                | 317                                |
| 30-а    | n.t.                                |                                    |
| 31-а    | n.t.                                |                                    |
| 32-а    | 6,66                                | 347                                |
| 33-а    | 6,58                                | 362                                |

n.c. означає, що pEC<sub>50</sub> не могла бути розрахованою.

n.t. означає не тестували

Значення pEC<sub>50</sub> не розраховували у випадках, коли крива залежності концентрація-відповідь не досягала рівня плато.

Всі сполуки тестували за присутності глутаматергічного агоніста mGluR2 в попередньо визначеній концентрації EC<sub>20</sub> для визначення позитивного алостеричного модулювання. Значення pEC<sub>50</sub> розраховували як результат експерименту по дослідженню залежності концентрація-відповідь щонайменше по 8 концентраціям.

В) ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ ЗІ СПОЛУКАМИ mGluR2 (ОРТОСТЕРИЧНИМ АГОНІСТОМ І СПОЛУКАМИ ФОРМУЛ (I)/(I-A)/(I-B))

Загальна інформація

Одержання сполук і розчинів

Тестові сполуки вводили з використанням оптимального співвідношення обсягу рідкої форми і обсягу рідин тіла. Тестові сполуки вводили мишам в обсязі 0,01 мл/г ваги тіла (White H.S., et al., General Principles: Experimental selection, quantification, and evaluation of antiepileptic drugs, in Antiepileptic Drugs, Fourth Edition, R. H. Levy, R.H. Mattson, and B. S. Meldrum, Editors. 1995, Raven Press, Ltd.: New York, pp. 99-110). Для підшкірного (s.c.) введення тестові сполуки вводили в складку шкіри вздовж спини тварини за виключенням сполуки 6-b, яку вводили перорально (p.o). Для кожного з тестів, які проводять для тестових сполук (за виключенням сполуки 6-b), кінцеві концентрації сполук вводили у вигляді водного розчину в 20 % Нр-β-CD. Для сполуки 6-b спочатку готували 40 % вихідний розчин Нр-β-CD і використовували для складання сполуки 6-b в необхідних концентраціях для тестування шляхом перорального введення; кінцеві концентрації сполуки вводили у вигляді суспензії в 20 % Нр-β-CD. Для груп, які одержували інертну речовину, використовували 20 % розчин Нр-β-CD.

Що стосується LY-404039, то кінцеві концентрації сполуки вводили у вигляді розчину натрію хлориду s.c.

Що стосується сполуки CAS 1092453-15-0, то кінцеві концентрації сполуки вводили в 10 % інертній речовині Нр-β-CD (+NaCl) після розчинення.

Підсумкові концентрації леветирацетаму вводили у водному розчині 0,5 % метилцелюлози (MC), який вводять шляхом інтраперитонеальної (i.p.) ін'єкції.

Важливі реагенти

а) Розчини інертних речовин

0,5 % метилцелюлози (MC)

40 % вихідний розчин гідроксипропіл-β-циклодекстину (Нр-β-CD)

б) Інші розчини

Тетракаїн (розчин 0,5 % ваг./об.) додавали по краплям з пластикового флакона-крапельниці в очі всіх тварин, які згодом повинні були одержати стимуляцію електричним струмом за допомогою рогілкових електродів.

Тварини і умови утримання тварин

Дорослих самців мишей-альбіносів CF № 1 (26-35 г) одержували з Charles River, Портедж, Мічіган. Тварин витримували на придатному раціоні (Prolab RMH 3000), та їм надавали вільний доступ до їжі і води за виключенням короткого періоду часу, коли їх виймали з клітки для тестування. Нещодавно одержаним тваринам в лабораторії надавали достатньо часу для

введення поправки на можливе обмеження в їжі і воді, якого вони зазнавали при перевезенні, перед використанням в тестуванні. Всі мишей тримали в пластикових клітках у спеціально сконструйованих камерах з регульованою вологістю, повітрообміном і регульованим освітленням (12 годин увімкнено - 12 годин вимкнено). Тварин утримували, годували і

забезпечували доглядом відповідно до рекомендації публікації Національної ради "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals".

Мінімальна рухова недостатність (MMI)

Гостру MMI оцінювали за допомогою комбінації безпосередніх спостережень за твариною щодо явних симптомів, пов'язаних з неврологічною або м'язовою функцією у тварини. Для мишей використовували процедуру з обертовим стрижнем з метою виявлення мінімальної м'язової або неврологічної недостатності. Якщо мишу поміщали на стрижень, що обертається зі швидкістю 6 об./хв., тварина могла підтримувати свою рівновагу протягом тривалих періодів часу. Тварину вважали нездоровою, якщо вона падала з цього обертового стрижня тричі протягом періоду 1 хв.

Визначення медіанних ефективних і токсичних доз ( $ED_{50}$  та  $TD_{50}$ )

Для визначення  $ED_{50}$  або  $TD_{50}$  для кожної тестової сполуки перша доза, яку вводили, зазвичай вже була тією ж дозою, яку застосовували при успішному визначенні TPE. Якщо вихідна доза, що використовувалась, була ефективною або токсичною в більше 50 % тварин, то наступна доза становила половину від вихідної дози; якщо вихідна доза була ефективною або токсичною в менше 50 % тварин, то наступна доза була двічі більшою вихідної дози. Третю і четверту дози підбирали для одержання лінії дозозалежного ефекту з рівними інтервалами між точками. Необхідно мінімум 4 точки, які або включають 0 і 100 %, або розташовані в цьому діапазоні.

Визначення TPE

Тваринам в групах, як правило, по чотири в кожній вводили тестові сполуки, і кожну групу тестували в один з п'яти моментів часу: 0,25, 0,5, 1, 2 або 4 год. після обробки (White et al. 1995). TPE визначали за допомогою аналізу зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА). Момент часу (0,25, 0,5, 1, 2 або 4 год. після обробки), в який спостерігався максимальний захист, вважали часом пікового ефекту (TPE).

При TPE, визначеного для даного дослідження або визначеного раніше, сполуки тестували в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 та/або 44 мА) в декількох дозах, які включають дози, що викликають захист від незначного або відсутнього до повного захисту.

$ED_{50}$  і 95 % довірчий інтервал (C.I.) розраховували за допомогою пробіт-аналізу в комп'ютерній програмі наданою лабораторією (Finney "Probit Analysis" 34d Ed 1971, London: Cambridge University Press).

Збирання сироватки крові для аналізу pK/pD

В різних тестах тварин забивали після тестування, і кров, зливу з тулуба, та/або тканину головного мозку (цілий головний мозок) збирали для кількісної оцінки рівнів лікарського засобу. Відразу після тестування тварин декапітували, і кров, зливу з тулуба, збирали в пробірку BD Vacutainer®, яка містить K2EDTA, і охолоджували на льоду до центрифугування. Після центрифугування (13000-18000 об./хв., 5-7 хв.) плазму крові видаляли і переносили в промарковану мікроцентрифужну пробірку і зберігали при -80 °C. Для збору тканин головного мозку головні мізки мишей видаляли відразу після декапітації і негайно заморожували. Заморожений зразок поміщали в мічену центрифужну пробірку і зберігали при -80 °C.

Тест психомоторних нападів при стимуляції в 6 Гц у мишей

Тест нападів при стимуляції в 6 Гц використовують як модель фармакорезистентних лімбічних нападів. Напад під час стимуляції в 6 Гц відображає стійкість до фенітоїну, карбамазепіну, ламотриджину і топірамату (Barton et al. "Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy" Epilepsy Research 2001, Vol. 47, pp. 217-222).

Спосіб проведення тесту психомоторних нападів при стимуляції в 6 Гц

У мишей викликали фокальні епілептичні напади шляхом стимуляції рогівки (6 Гц, прямокутний імпульс 0,2 мс, тривалістю 3 с; Barton et al. 2001). Мишей тестували при 32 мА або 44 мА. Перед стимуляцією в кожне око наносили краплі 0,5 % тетракаїну. Напади, викликані стимуляцією рогівки в даному аналізі, характеризуються мінімальною клонічною фазою з наступними стереотипними автоматичними формами поведінки, які включають оглушеність, клонус передніх кінцівок, сіпання вібрисів і хвіст Штрауба. Тварини, що не проявляють ці форми поведінки, вважалися захищеними.

ПРИКЛАД 1 - ДОСЛІДЖЕННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ СПОЛУК 1 ТА 2

1.1. Дослідження комбінацій зі спол. № 1, спол. № 2 та леветирацетамом

Спочатку кожен сполук тестували індивідуально з дозою, яка демонструвала мінімальну активність в тесті зі стимуляцією в 6 Гц 44 мА в момент ТРЕ кожної сполуки. Якщо сполуки РАМ mGluR2 і леветирацетам вводили в комбінації (за аналогічної дози і моменту часу, як і для індивідуальних тестів), то спостерігали практично повний захист в тесті зі стимуляцією в 6 Гц 44 мА (таблиця 2). Додатково до реєстрації даних ефективності і токсичності для таких сполук окремо або в комбінації в кожній групі відбирали як зразки плазми крові, так і головного мозку для фармакокінетики/фармакокінетичного аналізу. Не спостерігали будь-якої фармакокінетичної взаємодії, виходячи з рівнів сполук в зразках плазми крові і головного мозку (дані не зазначені). Потрібно відзначити, що сполуки 1 та 2 демонстрували позитивну фармакодинамічну взаємодію з леветирацетамом в моделі зі стимуляцією в 6 Гц, яка, імовірно, не була викликана фармакокінетичною взаємодією, і без підвищення рухової недостатності (таблиці 2, 2а, 2б). Ефект 1 дози сполуки 2 також тестували щодо дозозалежного ефекту LEV. Як видно в таблиці 3, відбувалося ~200-разове відхилення ED<sub>50</sub> LEV у порівнянні з результатами, одержаними при тестуванні окремо LEV. LEV, імовірно, незначно підвищує ефективність спол. № 2 (таблиця 3).

1.2. Ізоболографічний аналіз взаємодій між спол. № 1 та леветирацетамом в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц

Проводили ізоболографічні дослідження для комбінованого введення спол. № 1 з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією 6 Гц (44 мА). Дослідження здійснювали відповідно до описаних раніше способів (Madsen et al. 2011). Вихідні значення ED<sub>50</sub> визначали як для спол. № 1, так і для LEV і використовували для розрахунку теоретичних значень ED<sub>50</sub> (+ стандартна похибка середнього, SEM) для трьох комбінацій фіксованих співвідношень доз (LEV: спол. № 1): 1:3, 1:1 та 3:1. Дози, що використовувались, були пропорційними до розрахункових значень ED<sub>50</sub>. Наприклад, співвідношення доз, що використовувалось для схеми 1:1, базувалося на 0,5 x ED<sub>50</sub> для LEV і 0,5 x ED<sub>50</sub> для спол. № 1. Аналогічно у випадку схеми 1:3 використовували 0,25 x ED<sub>50</sub> для LEV і 0,75 x ED<sub>50</sub> для спол. № 1. У випадку співвідношення доз 3:1 використовували 0,75 x ED<sub>50</sub> LEV і 0,25 x ED<sub>50</sub> для спол. № 1. Дози для експериментального лікування (дивись таблицю 4) були похідними теоретичних значень та їх коригували відповідно до спостережуваних ефектів. Експериментально виявлені значення ED<sub>50</sub> (+ SEM) для кожної комбінації фіксованого співвідношення доз зі статистичною метою порівнювали з теоретичними значеннями (t-критерій). Співвідношення доз визначали як нададитивне (синергетичне), якщо експериментально виявлене значення ED<sub>50</sub> було значно нижче теоретичного ED<sub>50</sub>. Потім визначали експериментальні комбіновані дози для аналогічних схем в тесті епілептичних нападів зі стимуляцією в 6 Гц (таблиця 4 нижче). Результати ізоболографічного дослідження зі сполукою 1 та леветирацетамом у моделі зі стимуляцією в 6 Гц демонстрували значний синергізм фармакодинамічної взаємодії при всіх оцінюваних співвідношеннях доз і близько відповідало рівням сполуки 1 в плазмі крові. Крім того, не спостерігали будь-якої рухової недостатності при будь-якому з оцінюваних співвідношень доз, що вказувало на те, що синергетична фармакодинамічна взаємодія не спричиняла підвищеної токсичності на рухові функції.

1.3. Мишача модель рогівкового кіндлінгу і дослідження зі сполукою 1

У мишей електричним струмом провокували напади за допомогою стимулів тривалістю 3 секунди, 3 мА, 60 Гц, двічі на добу за допомогою рогівкових електродів до досягнення критерію 5 послідовних епілептичних нападів на стадії 5 згідно зі шкалою Расіна (Racine "Modification of seizure activity by electrical stimulation" II. motor seizure" Electroenceph Clin Neurophysiol 1972, 32, pp. 281-294). Після досягнення у мишей стійкого стану кіндлінгу вводили тестову сполуку або інертну речовину і, в попередньо визначений ТРЕ, кожній тварині подавали електричний стимул, як зазначено вище. Після стимуляції тварин досліджували щодо наявності або відсутності судомної активності по шкалі Расіна (0-5), де 5 вказує на найвищий ступінь падіння і підйому. Одну дозу LEV та дві дози спол. № 1 тестували окремо і в комбінації щодо епілептичних нападів, спровокованих шляхом повторної стимуляції рогівки. Комбінація сполуки 1 з леветирацетамом в даній моделі свідчить про позитивну фармакодинамічну взаємодію (таблиця 5 нижче).

Підсумкові дані для тестованих окремо сполук наведені в таблиці 1, а додаткові результати досліджень, проведених згідно з прикладом 1, наведені в таблицях 2-5 нижче.

Таблиця 1. Підсумкові дані протисудомних ефектів при гострому нападі в моделі зі стимуляцією в 6 Гц при 32 мА і 44 мА для сполук РАМ mGluR2 1, 2, 11, 2-а, 25-а, 6-б та LY-404039 після s.c. введення (за виключенням сполуки 6-б, яку тестували p.o.) ТРЕ означає час пікового ефекту, CI означає довірчий інтервал, s.c. означає підшкірно, p.o. означає перорально, n.t. означає не тестували. ТРЕ визначали в тесті зі стимуляцією 6 Гц, 32 мА. Ефекти, як

правило, спостерігали для доз, які не викликали зниження під час тесту обертового стрижня. Для сполук 11 і 2-а представлені окремі значення повторних експериментів. Для сполуки 25а для досліджень зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА) використовували моменти часу як 0,25, так і 1 год.

Таблиця 1

| № спол.   | ТРЕ (год.) | ED <sub>50</sub> (95 % CI) мг/кг, s.c.                  |                                                                           | Бал епілептичного нападу (доза)                   |
|-----------|------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|           |            | 32 мА                                                   | 44 мА                                                                     | Провокування нападів шляхом рогівкового кіндлінгу |
| 11        | 0,5        | 4,77 (3,54 – 6,76)<br>9,41 (1,53-15,1)                  | 31,5 (15,1 – 47,3)                                                        | 2,8<br>(100 мг/кг)                                |
| 2         | 0,25       | 3,83 (1,62 – 6,71)                                      | 5,89 (3,89 – 8,45)                                                        | 3,4<br>(40 мг/кг)                                 |
| 1         | 0,5        | 2,8 (1,3 – 4,3)                                         | 10,2 (3,1 – 12,4)                                                         | 3,7<br>(20 мг/кг)                                 |
| 25-а      | 1          | 7,7 (2,3-18,4)                                          | 1 година ТРЕ:<br>25,9 (15,5-33,7)<br>0,25 година ТРЕ:<br>29,1 (21,6-39,6) | n.t.                                              |
| 2-а       | 0,5        | 44,7 (23,4-80,5)<br>20,8 (10,0-31,7)<br>12,2 (8,4-17,4) | 50 % захист при<br>100 мг/кг<br>21 (17,9-27,4)                            | 4,4<br>(100 мг/кг)                                |
| 6-b       | 0,5        | 7,2 (4,2-11,8)                                          | 16,1 (13,0-20,1)                                                          | n.t.                                              |
| LY-404039 | 0,5        | 10,2 (3,62-12,4)                                        | n.t.                                                                      | 3,1<br>(100 мг/кг)                                |

5

Таблиця 1а

Підсумкові результати визначення ТРЕ при стимуляції в 6 Гц 32 мА для спол. № 1

| Доза (мг/кг, s.c.) | Час (год.) | 6 Гц, 32 мА | Рухова недостатність |
|--------------------|------------|-------------|----------------------|
| 10                 | 4          | 0/4         | 0/0                  |
|                    | 2          | 0/4         | 0/0                  |
|                    | 1          | 3/4         | 0/0                  |
|                    | 0,5        | 4/4         | 0/0                  |
|                    | 0,25       | 4/4         | 0/0                  |
| 5                  | 0,5        | 8/12        | 0/0                  |
|                    | 0,25       | 8/12        | 0/0                  |
| 2,5                | 0,5        | 5/8         | 0/0                  |
|                    | 0,25       | 1/8         | 0/0                  |

(Число мишей, захищених при стимуляції в 6 Гц або підданих токсичному впливу за оцінкою здатності утримуватися на обертовому стрижні/число протестованих мишей)

Дослідження дозозалежного ефекту спол. № 1 Попередньо було визначено, що ТРЕ для спол. № 1 становить 0,5 год. (результати показані вище в таблиці 1а). Деякі дози спол. № 1 вводили при даному ТРЕ і тестували в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц при інтенсивностях стимуляції як 32, так і 44 мА

5

Таблиця 1b

| Тест                                                   | Доза (мг/кг, s.c.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|--------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6Гц 32 мА                                              | 20                 | 8/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                        | 10                 | 7/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                        | 5                  | 8/12                                | 0/12                                                                                         |
|                                                        | 2,5                | 7/16                                | 0/16                                                                                         |
|                                                        | 0,5                | 1/8                                 | 0/8                                                                                          |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 2,8 мг/кг (від 1,3 до 4,3) |                    |                                     |                                                                                              |
| 6Гц 44 мА                                              | 20                 | 8/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                        | 15                 | 7/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                        | 10                 | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                        | 2,5                | 0/8                                 | 0/8                                                                                          |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 10,2 мг/кг (від 3,1 до 12,4)

Підсумкові дані взаємодії спол. № 1 та спол. № 2 з леветирацетамом (LEV) у мишачій моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц, 44 мА Результати наведені у вигляді числа мишей, в яких спостерігали повний захист/загальне число протестованих мишей в кожній групі дозування (для заданих рівнів дозування тестової сполуки або комбінації)

10

Таблиця 2

|  |                 | Доза            | Час (год.) | Число захищених/число протестованих | Число з токсичними ефектами щодо рухомих функцій/число протестованих |
|--|-----------------|-----------------|------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|  | LEV             | 10 мг/кг, i.p.  | 1          | 1/6                                 | 0/6                                                                  |
|  | Спол. № 2 + LEV | 3 мг/кг, s.c.   | 0,25       | 5/6                                 | 0/6                                                                  |
|  | спол. № 2       | 3 мг/кг, s.c.   | 0,25       | 1/6                                 | 0/6                                                                  |
|  | LEV             | 10 мг/кг, i.p.  | 1          | 1/8                                 | 0/8                                                                  |
|  | Спол. № 1 + LEV | 2,5 мг/кг, s.c. | 0,5        | 6/8                                 | 0/8                                                                  |
|  | спол. № 1       | 2,5 мг/кг, s.c. | 0,5        | 0/8                                 | 0/8                                                                  |

Таблиця 2а

Рівні спол. № 1. в плазмі крові і головному мозку в дослідженні комбінації з леветирацетамом (LEV) BQL означає нижче межі, що може бути кількісно визначеною

| спол. № 1                                          | LEV      | Плазма крові<br>(нг/мл) | спол. № 1 | Плазма крові<br>(нг/мл) | Захист при<br>стимуляції в 6<br>Гц |
|----------------------------------------------------|----------|-------------------------|-----------|-------------------------|------------------------------------|
| 6 Гц 44 мА                                         | 10 мг/кг | 9350                    | 2,5 мг/кг | BQL                     | Так                                |
|                                                    |          | 8580                    |           | 244                     | ні                                 |
|                                                    |          | 10900                   |           | 314                     | Так                                |
|                                                    |          | 10300                   |           | 382                     | Так                                |
|                                                    |          | 9780                    |           | 416                     | Так                                |
|                                                    |          | 9780                    |           | 377                     | Так                                |
|                                                    |          | 13700                   |           | 2260*                   | ні                                 |
|                                                    |          | 10100                   |           | 607                     | Так                                |
| Середній рівень<br>в плазмі крові                  |          | 10311                   |           | 657,1<br>(390)          | 6/8                                |
| Середні рівні в<br>плазмі крові (не<br>комбінація) | 1/8      | 8254                    | 0/8       | 438                     |                                    |

Середній рівень в плазмі крові, показаний в круглих дужках (), розраховували з видаленням статистичного критерію для визначення викидів\*

Таблиця 2b

Рівні спол. № 2. в плазмі і головному мозку в дослідженні комбінацій з леветирацетамом (LEV) AQL означає нижче кількісно межі, що може бути кількісно визначеною

| спол. № 2                                                                | LEV      | Плазма<br>крові<br>(нг/мл) | Головний<br>мозок<br>(нг/мл) | спол. № 2 | Плазма крові<br>(нг/мл) | Головний<br>мозок<br>(нг/мл) | Захист при<br>стимуляції в 6<br>Гц |
|--------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------------|------------------------------|-----------|-------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 6 Гц 44 мА                                                               | 10 мг/кг | 6450                       | 6290                         | 3 мг/кг   | 1830                    | 1540                         | Так                                |
|                                                                          |          | 8200                       | 7990                         |           | 386                     | 1020                         | Так                                |
|                                                                          |          | 3540                       | 4760                         |           | 4700                    | 1310                         | Так                                |
|                                                                          |          | 3850                       | NA                           |           | 467                     | NA                           | ні                                 |
|                                                                          |          | 7150                       | 6380                         |           | AQL (>500)              | 1120                         | Так                                |
|                                                                          |          | 3890                       | 3960                         |           | 2080                    | 1140                         | Так                                |
| Середні рівні в<br>плазмі<br>крові/головному<br>мозку                    |          | 5513                       | 5876                         |           | 1893                    | 1226                         | 5/6                                |
| Середні рівні в<br>плазмі<br>крові/головному<br>мозку (не<br>комбінація) | 1/6      | 8750                       | 5773                         | 1/6       | 1295                    | 1113                         |                                    |

NA - зразок, не доступний для аналізу

Визначення ED<sub>50</sub> в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц (44 мА) для спол. № 2 та леветирацетаму (LEV) окремо і в комбінації LEV в дозі 10 мг/кг підвищував активність спол. № 2 (~5-разове відхилення ED<sub>50</sub>). Спол. № 2 в дозі 3 мг/кг підвищувала як ефективність (до 100 % захисту), так і активність LEV (~200-разове відхилення ED<sub>50</sub>).

На фігурі 1 показано дозозалежний ефект для результатів визначень ED<sub>50</sub> при стимуляції в 6 Гц, 44 мА, для спол. № 2 і LEV окремо і в комбінації.

Таблиця 3

| Обробка                       | ED <sub>50</sub> (95 % CI)<br>мг/кг | Максимальний ефект<br>(% захисту) |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Спол. № 2 окремо              | 6,97<br>(5,44 – 8,30)               | 100 %                             |
| Спол. № 2<br>+ LEV (10 мг/кг) | 1,35<br>(0,8 – 1,9)                 | 100 %                             |
| LEV окремо                    | ~ 200                               | 75 %                              |
| LEV<br>+ спол. № 2 (3 мг/кг)  | 1,0<br>(0,23 – 2,24)                | 100 %                             |

Таблиця 4

Результати спол. № 1 і леветирацетаму в ізоболографічному дослідженні

| Група                                              | LEV<br>(мг/кг,<br>i.p.) | f   | Спол.<br>№ 1<br>(мг/кг,<br>s.c.) | f   | Комбінована<br>доза (мг/кг) | Обертвий<br>стрижень<br>Число з<br>токсичними<br>ефектами<br>щодо рухомих<br>функцій/число<br>протестованих | 6 Гц (44 мА)<br>Число<br>захищених/чи<br>сло<br>протестовани<br>х |
|----------------------------------------------------|-------------------------|-----|----------------------------------|-----|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1:1<br>схема                                       | 181                     | 0,5 | 5,1                              | 0,5 | 93,1                        | 0/8                                                                                                         | 8/8                                                               |
|                                                    | 90,5                    |     | 2,6                              |     | 46,6                        | 0/8                                                                                                         | 6/8                                                               |
|                                                    | 45,3                    |     | 1,3                              |     | 23,3                        | 0/8                                                                                                         | 3/8                                                               |
|                                                    | 22,6                    |     | 0,6                              |     | 11,6                        | 0/8                                                                                                         | 3/8                                                               |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI; мг/кг): 22,2 (8,4-35,7) |                         |     |                                  |     |                             |                                                                                                             |                                                                   |
| схема<br>1:3                                       | 45,3                    | .25 | 3,8                              | .75 | 14,2                        | 0/8                                                                                                         | 8/8                                                               |
|                                                    | 22,6                    |     | 1,9                              |     | 7,1                         | 0/8                                                                                                         | 4/8                                                               |
|                                                    | 11,3                    |     | 1,0                              |     | 3,6                         | 0/8                                                                                                         | 2/8                                                               |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI; мг/кг): 5,9 (3,5-8,7)   |                         |     |                                  |     |                             |                                                                                                             |                                                                   |
| схема<br>3:1                                       | 271,5                   | .75 | 2,6                              | .25 | 204,3                       | 0/8                                                                                                         | 8/8                                                               |
|                                                    | 135,8                   |     | 1,3                              |     | 102,2                       | 0/8                                                                                                         | 3/8                                                               |
|                                                    | 67,9                    |     | 0,6                              |     | 51,1                        | 0/8                                                                                                         | 3/8                                                               |
|                                                    | 33,9                    |     | 0,3                              |     | 25,5                        | 0/8                                                                                                         | 0/8                                                               |

ED<sub>50</sub> (95 % CI; мг/кг): 86,3 (56,8-131,4)

Результати ізоболографічного аналізу (фігура 2) свідчать про те, що комбінація спол. № 1 та леветирацетаму призводить в результаті до значного позитивного синергетичного ефекту.

Таблиця 5

Результати спол. № 1 та леветирацетаму  
в дослідженні комбінацій в моделі рогівкового кіндлінгу у мишей

| Сполука(сполуки)                                                              | Число захищених/число протестованих         | % захищених                                                                             | Середня оцінка епілептичного нападу |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Інертна речовина (20 % HPBCD через 30 хв., s.c.; 0,5 % МС через 60 хв., i.p.) | 0/10                                        | 0 %                                                                                     | 4,7                                 |
| LEV, 3 мг/кг                                                                  | 5/13                                        | 38 %                                                                                    | 3,3                                 |
| Спол. № 1, 30 мг/кг                                                           | 3/12                                        | 25 %                                                                                    | 4,0                                 |
| LEV, 3 мг/кг, і спол. № 1, 30 мг/кг                                           | 10/10                                       | 100 %                                                                                   | 0,6                                 |
| Спол. № 1, 20 мг/кг                                                           | 5/16                                        | 31 %                                                                                    | 3,7                                 |
| LEV, 3 мг/кг, і спол. № 1, 20 мг/кг                                           | 7/10                                        | 70 %                                                                                    | 1,9                                 |
|                                                                               | Оцінка епілептичного нападу по шкалі Расіна | Від 0 до 5<br>0 = відсутність судомної активності<br>5 = максимальна судомна активність |                                     |

5

#### ПРИКЛАД 2 - ДОСЛІДЖЕННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ СПОЛУК 25-а ТА 2-а

##### 2.1. Дослідження комбінацій зі спол. № 25 та леветирацетамом

Здійснювали незалежні дослідження дозозалежного ефекту в тесті зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА для обох сполук з метою визначення значень ED<sub>50</sub> в ТРЕ 1 год., i.p., для леветирацетаму, і для 1 год., s.c., для спол. № 25-а. Значення ED<sub>50</sub> для спол. № 25-а становило 25,9 мг/кг, а для леветирацетаму значення оцінювали як таке, що дорівнює приблизно 345 мг/кг. Дозозалежний ефект для леветирацетаму повторювався при комбінованому введенні 10 мг/кг спол. № 25-а (доза спол. № 25-а, яка окремо не захищала в моделі зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА). Комбіноване введення 10 мг/кг спол. № 25-а давало ED<sub>50</sub> для дозозалежного ефекту леветирацетаму в 4,9 мг/кг (~70-разове зниження у порівнянні з леветирацетамом окремо) і, що важливо, забезпечувало повний захист в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц, 44 мА. Такі результати дозволяють зробити припущення про позитивну фармакодинамічну взаємодію між спол. № 25-а і леветирацетамом в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц.

Визначення часу досягнення пікового ефекту для спол. № 25-а в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА). В даному дослідженні використовували дві дози, 10 і 20 мг/кг, в деяких моментах часу (0,25-4 год.). Сполука виявила найбільший ступінь захисту в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц, від 0,25 до 1 год., який був найбільш вираженим при 20 мг/кг. Рівні сполуки в плазмі крові, як правило, відповідали захисту від поведінкового нападу. ТРЕ 0,25 год. використовували для досліджень зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА), при цьому для досліджень зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА) використовували моменти часу як 0,25, так і 1 год.

Таблиця 6

| Доза (мг/кг, s.c.) | Час (год.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих | Середні рівні спол. № 25-а (нг/мл) в плазмі крові |
|--------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 10                 | 0,25       | 2/4                                 | 0/4                                                                                          | 10,983 (2,477)                                    |
|                    | 0,5        | 1/4                                 | 0/4                                                                                          | 3,330                                             |
|                    | 1          | 1/4                                 | 1/4                                                                                          | 700                                               |
|                    | 2          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          | 256                                               |
|                    | 4          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          | 40                                                |
| 20                 | 0,25       | 4/4                                 | 0/4                                                                                          | 4,095                                             |
|                    | 0,5        | 3/4                                 | 1/4                                                                                          | 2,800                                             |
|                    | 1          | 4/4                                 | 1/4                                                                                          | 1,765                                             |
|                    | 2          | 1/4                                 | 0/4                                                                                          | 618                                               |
|                    | 4          | 1/4                                 | 1/4                                                                                          | 28                                                |

s.c. означає підшкірний

Середній рівень в плазмі крові, показаний в круглих дужках (), розраховували з видаленням статистичного критерію для визначення викидів.

5 Дослідження дозозалежних ефектів для спол. № 25-а в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА<sup>а</sup> і 44 мА<sup>б</sup>) CI означає довірчий інтервал

Таблиця 7

| Тест                                             | Доза (мг/кг, s.c.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих | Середні рівні спол. № 25-а (нг/мл) в плазмі крові |
|--------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 6Гц 32 мА                                        | 20                 | 8/8                                 | 0/8                                                                                          | 5,570                                             |
|                                                  | 15                 | 3/8                                 | 0/8                                                                                          | 1,201                                             |
|                                                  | 10                 | 4/8                                 | 0/8                                                                                          | 6,113                                             |
|                                                  | 5                  | 4/8                                 | 0/8                                                                                          | 2,558                                             |
|                                                  | 1                  | 1/8                                 | 0/8                                                                                          | 466                                               |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 7,7 мг/кг (2,3-18,4) |                    |                                     |                                                                                              |                                                   |
| 6Гц 44 мА                                        | 40                 | 7/8                                 | 0/8                                                                                          | 6,263                                             |
|                                                  | 30                 | 3/8                                 | 0/8                                                                                          | 7,220                                             |
|                                                  | 20                 | 2/8                                 | 0/8                                                                                          | 3,368                                             |
|                                                  | 10                 | 0/8                                 | 0/8                                                                                          | 4,345 (1,526)                                     |
|                                                  | 5                  | 0/8                                 | 1/8                                                                                          | 1,428                                             |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 29,1 мг/кг (21,6-39,6)

<sup>а</sup>Час досягнення пікового ефекту в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц, 32 мА, для спол. № 25-а визначали як такий, що становить 0,25 год. (див. таблицю 1).

<sup>б</sup>Час досягнення пікового ефекту в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА, для спол. № 25-а був однаковим для 0,25 год. і 1 год.; результати для 1 год. підтверджували ED<sub>50</sub> (95 % CI) 25,9 (15,5-33,7) (див. таблиці 1 і 6).

10 Середній рівень в плазмі крові, показаний в круглих дужках (), розраховували з видаленням статистичного критерію для визначення викидів.

Таблиця 8

Дослідження комбінацій для спол. № 25-а з  
леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА)

| Лікарський засіб                                      | Доза (мг/кг, s.c.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|-------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV                                                   | 200                | 2/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 400                | 4/9                                 | 0/9                                                                                          |
|                                                       | 800                | 10/12                               | 0/12                                                                                         |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 345,4 мг/кг (211,0-485,3) |                    |                                     |                                                                                              |
| LEV + спол. № 25-а, 10 мг/кг                          | 200                | 8/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                       | 100                | 7/8                                 | 2/8                                                                                          |
|                                                       | 50                 | 5/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                       | 10                 | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 1                  | 4/8                                 | 1/8                                                                                          |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 4,9 (0,0 – 14,2)

спол. № 25-а (s.c.), 10 мг/кг, протестована в комбінації з LEV (i.p.) - спол. № 25-а, 10 мг/кг, не активна при окремому введенні.

## 2.2. Дослідження комбінацій зі спол. № 2 і леветирацетамом

Здійснювали дослідження дозозалежного ефекту в тестах зі стимуляцією в 6 Гц, 32 мА і 44 мА, (таблиця 9 нижче) і в тесті комбінацій з леветирацетамом (вплив спол. № 2-а на дозозалежний ефект LEV в таблицях 10а і вплив LEV на дозозалежний ефект спол. № 2-а в таблиці 10b нижче) таким чином, як описано для досліджень зі спол. № 25-а і леветирацетамом вище.

Дослідження дозозалежних ефектів для спол. № 2-а в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА і 44 мА; 0,5 год. ТРЕ) Час досягнення пікового ефекту 0,5 год. визначали в тесті зі стимуляцією в 6 Гц, 32 мА (s.c.), і використовували для досліджень зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА і 44 мА)

Таблиця 9

| Тест                                              | Доза (мг/кг, s.c.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|---------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6Гц<br>32 мА                                      | 40                 | 8/8                                 | 2/8                                                                                          |
|                                                   | 20                 | 6/8                                 | 3/8                                                                                          |
|                                                   | 10                 | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                   | 5                  | 0/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                   | 2,5                | 0/8                                 | 1/8                                                                                          |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 12,2 мг/кг (8,4-17,4) |                    |                                     |                                                                                              |
| 6Гц<br>44 мА                                      | 40                 | 8/8                                 | 4/8                                                                                          |
|                                                   | 20                 | 3/8<br>3/8                          | 0/8<br>0/8                                                                                   |
|                                                   | 15                 | 2/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                   | 10                 | 0/8<br>0/8                          | 1/8<br>0/8                                                                                   |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 21,0 мг/кг (17,9-27,4)

TD<sub>50</sub>: > 40 мг/кг<sup>а</sup>

<sup>а</sup>40 мг/кг - 6 з 16 у підсумку (комбіновані 32 мА і 44 мА) з недостатністю.

Доза, вибрана для досліджень комбінації з LEV в 6 Гц (44 мА): спол. № 2-а 10 мг/кг.

Таблиця 10а

Дослідження комбінацій для спол. № 2-а з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА) Комбінація 10 мг/кг спол. № 2-а з різними дозами леветирацетаму

| Лікарський засіб                                          | Доза (мг/кг) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертним стрижнем/число протестованих |
|-----------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV                                                       | 200          | 2/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 400          | 4/9                                 | 0/9                                                                                         |
|                                                           | 800          | 10/12                               | 0/12                                                                                        |
| LEV ED <sub>50</sub> (95 % CI): 345,4 мг/кг (211,0-485,3) |              |                                     |                                                                                             |
| LEV + Спол. № 2-а<br>10 мг/кг <sup>а</sup>                | 200          | 6/8                                 | 1/8                                                                                         |
|                                                           | 100          | 6/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 50           | 6/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 25           | 8/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 12,5         | 5/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 6,25         | 4/8                                 | 0/8                                                                                         |
|                                                           | 3,125        | 3/8                                 | 1/8                                                                                         |
|                                                           | 1,5625       | 0/8                                 | 0/8                                                                                         |

LEV ED<sub>50</sub> (95 % CI): 9,6 мг/кг (1,7 – 21,9)

<sup>а</sup>Спол. № 2-а (s.c.) 10 мг/кг, тестували в комбінації з LEV (i.p.); спол. № 2-а, 10 мг/кг, не активна при введенні окремо.

Додаткові контрольні групи для LEV (низьке дозування) тестували при 25 і 6,25 мг/кг (1/8 та 0/6 захищених відповідно).

5 Миші, оброблені інертною речовиною (0,5 % метилцелюлозою, i.p., (1 год.) / 20 % HPBCD, s.c. (0,5 год.)) не демонстрували захист (0/8 захищених).

Таблиця 10b

Дослідження комбінацій для спол. № 2-а з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА) Комбінація 350 мг/кг леветирацетаму з різними дозами спол. № 2-а

| Лікарський засіб                         | Доза (мг/кг) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV (окремо) <sup>a</sup>                | 350          | 3/8                                 | 0/8                                                                                          |
| LEV 350 мг/кг + спол. № 2-а <sup>b</sup> | 20           | 8/8                                 | 2/8                                                                                          |
|                                          | 10           | 7/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                          | 5            | 7/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                          | 2,5          | 5/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                          | 1,25         | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |

Попереднє значення ED<sub>50</sub> для спол. № 2-а (95 % CI): 21,0 мг/кг (від 17,9 до 27,4)

ED<sub>50</sub> для комбінації LEV та спол. № 2-а (95 % CI): 1,5 мг/кг (0,1-2,7)

~14-кратне відхилення активності

<sup>a</sup>ED<sub>50</sub> для LEV (представлене окремо), попередньо визначене при стимуляції в 6 Гц (44 мА): 345 мг/кг.

<sup>b</sup>Спол. № 2-а (s.c.) 10 мг/кг, тестували в комбінації з LEV (i.p.); спол. № 2-а, 10 мг/кг, не активна при введенні окремо.

Додаткові контрольні групи для LEV (низьке дозування) тестували при 25 і 6,25 мг/кг (1/8 та 0/6 захищених відповідно).

5 Миші, оброблені інертною речовиною (0,5 % метилцелюлозою, i.p., (1 год.) / 20 % HPBCD, s.c. (0,5 год.) не демонстрували захист (0/8 захищених).

10 При дозі 10 мг/кг, s.c., спол. № 2-а підвищує ефективність LEV, що призводить до приблизно 35-кратного зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок (таблиця 10a). При дозі 350 мг/кг, i.p., LEV підвищує ефективність спол. № 2-а, що призводить до приблизно 14-разового зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок (таблиця 10b).

ПРИКЛАД 3 - ДОСЛІДЖЕННЯ ЗІ СПОЛУКОЮ 6-b

3.1. Дослідження комбінацій зі спол. № 6-b та леветирацетамом

15 Здійснювали незалежні дослідження дозозалежного ефекту в тесті зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА для обох сполук з метою визначення значень ED<sub>50</sub> в TPE 1 год., i.p., для леветирацетаму, так і для 0,5 год., p.o., для спол. № 6-b. Значення ED<sub>50</sub> для спол. № 6-b становило 16,1 мг/кг, а для леветирацетаму значення оцінювали як таке, що становить приблизно 345 мг/кг. Дозозалежний ефект для леветирацетаму повторювався при комбінованому введенні 10 мг/кг спол. № 6-b (доза спол. № 6-b, яка окремо не захищала в моделі зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА).

20 Комбіноване введення 10 мг/кг спол. № 6-b давало ED<sub>50</sub> для дозозалежного ефекту леветирацетаму в 2,4 мг/кг (~100-разове зниження у порівнянні з леветирацетамом окремо) і, що важливо, забезпечувало повний захист в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц, 44 мА. Такі результати дозволяють зробити припущення про позитивну фармакодинамічну взаємодію між спол. № 6-b та леветирацетамом в моделі епілептичного нападу при стимуляції в 6 Гц.

25

Результати досліджень, проведених зі сполукою 6-b, наведені в таблицях 11-13 нижче.

Таблиця 11

Визначення часу досягнення пікового ефекту  
для спол. № 6-b (р.о.) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА)

| Доза (мг/кг, р.о.) | Час (год.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|--------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10                 | 0,25       | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 0,5        | 3/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 1          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 2          | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 4          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
| 20                 | 0,25       | 4/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 0,5        | 3/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 1          | 4/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 2          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 4          | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |

Визначили, що TPE становило 0,5 год.

Таблиця 12

Дослідження дозозалежних ефектів для  
спол. № 6-b в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА і 44 мА; 0,5 год. TPE)

| Тест                                               | Доза (мг/кг, р.о.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|----------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6Гц 32 мА                                          | 20                 | 7/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 10                 | 6/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 5                  | 2/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 2,5                | 1/8                                 | 0/8                                                                                          |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 7,2 мг/кг (4,2-11,8)   |                    |                                     |                                                                                              |
| 6Гц 44 мА                                          | 40                 | 8/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 20                 | 6/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 15                 | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                    | 10                 | 0/8                                 | 0/8                                                                                          |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 16,1 мг/кг (13,0-20,1) |                    |                                     |                                                                                              |

Таблиця 13

Дослідження комбінацій для спол. № 6-b з LEV в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА)

| Лікарський засіб                                      | Доза (мг/кг) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|-------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV                                                   | 200          | 2/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 400          | 4/9                                 | 0/9                                                                                          |
|                                                       | 800          | 10/12                               | 0/12                                                                                         |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 345,4 мг/кг (211,0-485,3) |              |                                     |                                                                                              |
| LEV + спол. № 6-b, 10 мг/кг                           | 200          | 8/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 100          | 8/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 50           | 5/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 10           | 5/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                       | 1            | 5/8                                 | 0/8                                                                                          |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 2,4 (0,0 – 6,4)

Спол. № 6-b (р.о.), 10 мг/кг, протестована в комбінації з LEV (і.р.)

Спол. № 6-b, 10 мг/кг, не активна при окремому введенні

#### ПРИКЛАД 4 - ДОСЛІДЖЕННЯ ЗІ СПОЛУКОЮ LY404039

3.1. Дослідження комбінації з LY404039 і леветирацетамом

LY-404039 тестували окремо і в комбінації з леветирацетамом згідно з процедурами, вже описаними в даному документі вище. Результати досліджень, проведених зі сполукою LY-404039, наведені в таблицях 14-15 нижче.

Дослідження дозозалежних ефектів для LY404039 в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА і 44 мА). Час досягнення пікового ефекту 0,5 год. визначали в тесті зі стимуляцією в 6 Гц, 32 мА (s.c.), і використовували для досліджень зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА і 44 мА)

Таблиця 14

| Тест                                              | Доза (мг/кг, s.c.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|---------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6Гц 32 мА                                         | 40                 | 8/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                   | 20                 | 6/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                   | 10                 | 5/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                   | 5                  | 1/16                                | 1/16                                                                                         |
| ED <sub>50</sub> (95 % CI): 10,9 мг/кг (7,8-15,9) |                    |                                     |                                                                                              |
| 6Гц 44 мА                                         | 40                 | 7/8                                 | 2/8                                                                                          |
|                                                   | 20                 | 7/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                   | 10                 | 3/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                   | 5                  | 0/16                                | 0/16                                                                                         |

ED<sub>50</sub> (95 % CI): 14,1 мг/кг (10,0-20,6)

TD<sub>50</sub><sup>a</sup> > 40 мг/кг<sup>a</sup>

<sup>a</sup>40 мг/кг - 3 з 16 у підсумку (комбіновані 32 мА і 44 мА) з недостатністю.

Примітка: не спостерігали активність після введення інертної речовини при 32 або 44 мА.

Доза, вибрана для досліджень комбінації з LEV в 6 Гц (44 мА): LY404039 5 мг/кг.

Таблиця 15

Дослідження комбінацій для LY404039 з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА)

| Лікарський засіб                                          | Доза (мг/кг) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|-----------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV <sup>a</sup>                                          | 200          | 2/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                           | 400          | 4/9                                 | 0/9                                                                                          |
|                                                           | 800          | 10/12                               | 0/12                                                                                         |
| LEV ED <sub>50</sub> (95 % CI): 345,4 мг/кг (211,0-485,3) |              |                                     |                                                                                              |
| LEV+LY404039, 5 мг/кг <sup>b</sup>                        | 200          | 8/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                           | 50           | 6/8                                 | 1/8                                                                                          |
|                                                           | 20           | 6/8                                 | 2/8                                                                                          |
|                                                           | 5            | 2/8                                 | 1/8                                                                                          |

LEV ED<sub>50</sub> (95 % CI): 12,8 мг/кг (2,5 – 25,2)

<sup>a</sup>LEV окремо показаний раніше, дози підтвердження здійснювали в комбінації зі спол. № 2-а (див. попередню таблицю вище).

<sup>b</sup>LY404039 (s.c.), 5 мг/кг, протестована в комбінації з LEV (i.p.); LY404039, 5 мг/кг, не була активною при окремому введенні.

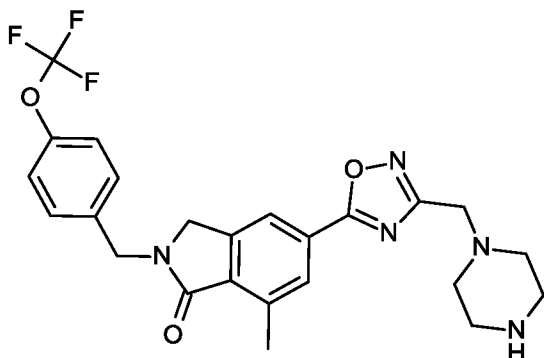
Додаткові контрольні групи для LEV (низьке дозування) тестували при 25 і 6,25 мг/кг (1/8 та 0/6 захищених відповідно).

5 Миші, оброблені інертною речовиною (10 % стерильна вода - NaCl; s.c., 0,5 год. TPE і 0,5 % MC, i.p., 1 год. TPE), не демонстрували захист або погіршення при оцінці здатності до утримання на обертовому стрижні.

В дозі 5 мг/кг LY404039 підвищує ефективність LEV, що призводить приблизно до 27-разового зсуву ED<sub>50</sub>. Це свідчить про позитивний фармакодинамічний взаємозв'язок.

#### 10 ПРИКЛАД 4 - ДОСЛІДЖЕННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ СПОЛУКИ 1092453-15-0

4.1. Дослідження комбінацій з 2,3-дигідро-7-метил-5-[3-(1-піперазинілметил)-1,2,4-оксадіазол-5-іл]-2-[[4-(трифторметокси)феніл]метил]-1H-ізоіндол-1-оном [CAS 1092453-15-0] (описаним у WO 2008150233, WO 2011084098) та леветирацетамом



15 CAS 1092453-15-0 тестували окремо і в комбінації з леветирацетамом згідно з процедурами, що вже описували в даному документі вище. Результати прикладу 5 наведені в таблицях 16-17.

Таблиця 16. Дослідження дозозалежних ефектів для CAS 1092453-15-0 в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА)

Таблиця 16

Дослідження дозозалежних ефектів для CAS 1092453-15-0 в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (32 мА)

| Доза (мг/кг, s.c.) | Час (год.) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|--------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 20                 | 0,25       | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 0,5        | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 1          | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 2          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 4          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
| 40                 | 0,25       | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 0,5        | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 1          | 1/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 2          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 4          | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
| 80                 | 0,25       | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 0,5        | 0/4                                 | 0/4                                                                                          |
|                    | 1          | 1/4                                 | 1/4                                                                                          |

Спостерігали низьку активність в протестованих дозах і моментах часу. Найвищу активність через 0,25-1 год. в протестованих дозах. Дослідження комбінацій проводили з використанням 5 20 мг/кг, s.c, 1 год. ТРЕ в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА).

Таблиця 17

Дослідження комбінацій для CAS 1092453-15-0 з леветирацетамом (LEV) в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА)

| Лікарський засіб                                          | Доза LEV (мг/кг) | Число захищених/число протестованих | Число з руховою недостатністю за результатами тесту з обертовим стрижнем/число протестованих |
|-----------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LEV <sup>a</sup>                                          | 200              | 2/8                                 | 0/8                                                                                          |
|                                                           | 400              | 4/9                                 | 0/9                                                                                          |
|                                                           | 800              | 10/12                               | 0/12                                                                                         |
| LEV ED <sub>50</sub> (95 % CI): 345,4 мг/кг (211,0-485,3) |                  |                                     |                                                                                              |
| [CAS 1092453-15-0] (20 мг/кг, окремо)                     |                  | 0/8                                 | 0/8                                                                                          |
| LEV + [CAS                                                | 400              | 4/8                                 | 0/8                                                                                          |

|                                        |     |     |     |
|----------------------------------------|-----|-----|-----|
| 1092453-15-0]<br>20 мг/кг <sup>b</sup> | 200 | 5/8 | 0/8 |
|                                        | 50  | 3/8 | 0/8 |
|                                        | 20  | 2/8 | 0/8 |
|                                        | 5   | 1/8 | 1/8 |

LEV ED<sub>50</sub> (95 % CI): 238,9 мг/кг (41,6 - перевищує найвищу протестовану дозу)

<sup>a</sup>Додаткові контрольні групи для LEV (низьке дозування) тестували при 25 і 6,25 мг/кг (1/8 та 0/6 захищених відповідно).

<sup>b</sup>[CAS 1092453-15-0], 20 мг/кг (s.c.; 1 год. TPE), протестовані в комбінації з LEV (i.p.; 1 год. TPE); [CAS 1092453-15-0], 20 мг/кг, демонстрували низьку активність при окремому введенні (6 Гц, 32 мА) та їх не тестували в аналізі зі стимуляцією в 6 Гц (44 мА). Дана сполука демонструвала *in vitro* EC<sub>50</sub>=562 нМ (E<sub>max</sub>=197 %) при тестуванні в аналізі GTPγS, який описували вище в даному документі, і будь-якої зайнятості не спостерігали в *ex vivo* експериментах з щурами.

Примітка: тварини, оброблені інертною речовиною (10 % HPβCD-NaCl, s.c., 1 год. і 0.5 % MC, i.p., 1 год.), не демонстрували захист або рухову недостатність, N=8.

Поточний набір даних свідчить про те, що PAM mGlu2 або молекули-агоністи mGlu2 мали протисудомну активність в тваринній моделі при стимуляції в 6 Гц. Протестовані PAM mGlu2 з EC<sub>50</sub> активностями ≤150 нМ (які визначали в аналізі [<sup>35</sup>S]GTPγS), відповідними РК параметрами і здатністю до проникнення в головний мозок демонстрували активність як в схемі зі стимуляцією в 32 мА, так і в схемі зі стимуляцією в 44 мА, 6 Гц. Крім того, всі протестовані молекули демонстрували синергетичні ефекти з LEV. Навпаки, молекула CAS 1092453-15-0, яка була лише в незначному ступені активною (EC<sub>50</sub> 562 нМ) *in vitro*, не демонструвала активність в будь-якому із тестів зі стимуляцією в 6 Гц, а також не демонструвала синергізм з LEV.

Необхідно відзначити, що дані свідчать про те, що в умовах зіставних РК характеристик і відповідної здатності до проникнення в головний мозок найбільш активні PAM mGlu2, виходячи з *in vitro* значень EC<sub>50</sub>, також проявляли себе як найбільш активні *in vivo*, що свідчить про те, що *in vitro* та *in vivo* активності можуть бути пов'язаними. Крім того, синергетичні ефекти з LEV закономірно спостерігали для доз PAM mGlu2, подібних до ED<sub>50</sub>, одержаних в моделі зі стимуляцією в 32 мА, або при дозі щонайменше в 2-рази нижче ED<sub>50</sub>, визначеній в схемі зі стимуляцією в 44 мА (тобто доза була неактивною в тесті зі стимуляцією в 44 мА при тестуванні окремих молекул).

Також відносно LY404039, агоніста mGlu2/3, спостерігали активність в обох тестах зі стимуляцією в 6 Гц, а синергізм спостерігали при дозі в 3 рази менше ED<sub>50</sub>, визначеній в моделі зі стимуляцією в 44 мА, яка була неактивною при тестуванні окремо.

На основі загальнодоступних даних доклінічних досліджень в моделі зі стимуляцією в 6 Гц, 44 мА очевидно, що введення комбінації активного ліганду SV2A і активного PAM mGlu2 призводить до зниження медіанної ефективної дози або ED<sub>50</sub> ліганду SV2A, такого як LEV, в 35-100 разів.

Таким чином, без поглиблення в будь-яку теорію вважають, що сполуки, які являють собою позитивний алостеричний модулятор метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу (PAM mGluR2), зокрема сполуки PAM mGluR2, які мають активність EC<sub>50</sub> в ≤150 нМ (за результатами визначення в аналізі [<sup>35</sup>S]GTPγS), де EC<sub>50</sub> являє собою концентрацію, яка дає напівмаксимальний ефект в кривій залежності концентрація-відповідь, одержаній в присутності EC<sub>20</sub> глутамату, і з відповідними РК параметрами і здатністю до проникнення в головний мозок, дають в результаті синергетичну комбінацію з лігандом SV2A, зокрема леветирацетамом, при неефективних дозах одного або комбінації і першої, і другої сполуки (а) і сполуки (б) за даним винаходом.

Таким чином, в додатковому варіанті здійснення сполуку, яка являє собою позитивний алостеричний модулятор метаботропного глутаматергічного рецептора 2 підтипу (PAM mGluR2), комбінації за даним винаходом, яку визначено в даному документі, вибрано зі сполуки PAM mGluR2, яка має активність EC<sub>50</sub> в ≤150 нМ (як визначено в аналізі [<sup>35</sup>S]GTPγS), де EC<sub>50</sub> являє собою концентрацію, яка дає напівмаксимальний ефект на кривій залежності концентрація-відповідь, одержаній в присутності EC<sub>20</sub> глутамату.

ПРИКЛАДИ МОЖЛИВОГО ЗАСТОСУВАННЯ

А) ДОМІНАНТНО-ПІДКОРЕНІ ВІДНОСИНИ (DSR) У ЩУРІВ В АНАЛІЗІ IN VIVO

Аналіз DSR розділений на дві моделі: зменшення манії в моделі домінантної поведінки (RDBM) і зменшення депресії в моделі підкореної поведінки (RSBM). Модель RDBM, в якій домінантних тварин обробляли тестовою сполукою, дозволяє прогнозувати здатність тестової сполуки лікувати манію. Модель RSBM, в якій підкорених тварин обробляли тестовою сполукою, дозволяє прогнозувати здатність тестової сполуки лікувати депресію.

В даному аналізі використовували самців щурів лінії Спраг-Доулі (від 140 до 160 г) з Charles River Laboratories, Вілмінгтон, Масачусетс. Партії щурів одержували з двотижневими інтервалами. Кожну партію піддавали п'ятиденному карантину, однотижневому періоду акліматизації і однотижневому процесу відбору з наступною п'ятитижневою обробкою відібраних пар лікарським засобом або інертною речовиною.

Щурів утримували в клітках по чотири особини на кожну. Доступ до їжі обмежували до однієї години на день після проведення тестування з понеділка по четвер. Після проведення тестування в п'ятницю щурам надавали вільний доступ до їжі до повторного утримування від вживання їжі у неділю. Протягом всіх періодів часу щурів не позбавляли води. Задіяні періоди позбавлення їжі сприяли незначній ефект на збільшення ваги, оскільки середня вага щурів до завершення досліджень становила приблизно 300 г. В кінці експерименту щурів забивали шляхом декапітації, кров, зливу з тулуба, і головні мізки відбирали для експериментів *in vitro* та вимірювань концентрації лікарського засобу.

Основний пристрій для тестування складався з двох камер, з'єднаних лише тунелем, настільки великим, щоб дозволити одному щуру проходити крізь нього в конкретний момент часу. На дні, в середній частині тунелю, розташовували ємність з підсолодженім молоком. Цей основний пристрій дублювали таким чином, щоб сумарно одночасно чотири пари щурів можна було реєструвати на відеокамеру. Камера могла розпізнавати щурів, мічених різними квітами. Так, голови щурів фарбували з метою відеозапису червоним кольором в одній клітці і жовтим кольором в іншій. Тільки одна тварина у визначений момент часу може мати вільний доступ до годівниці, але обидві тварини щоденно можуть пити молоко протягом п'ятихвилинного періоду. Протягом щодобових п'ятихвилинних періодів, час, проведений в зоні годівниці кожним щуром, зафіксували програмним забезпеченням для захоплення відео і зберігали в текстовий файл.

Тест розпочинали з рандомізованого розділення щурів на пари. Кожного щура з пари розміщали в протилежній камері пристрою для проведення тесту. Записували час, проведений кожною твариною в зоні годівниці. Протягом першого тижня (п'яти діб) тестування тварин привчали до нового середовища перебування. Домінування приписували тварині з найвищим показником протягом другого тижня тестування при виконанні трьох критеріїв. По-перше, повинна існувати значуща різниця (двосторонній t-критерій,  $P < 0,05$ ) між середніми щоденними показниками пиття в обох тварин. По-друге, показник домінантної тварини повинен бути щонайменше на 25 % вищим, ніж показник підкореної тварини. У підсумку, не повинно бути "змін" протягом тижня відбору пар, під час яких гіпотетично підкорений щур випереджав за показником свого домінантного партнера в одиничних випадках. В ідеальному варіанті протягом тижня акліматизації зміни мають бути мінімальними. Тільки пари тварин, які відповідали цим критеріям, продовжували брати участь в дослідженні.

Значущі відмінності між часом, проведеним біля годівниці домінантного і підкореного щурів, визначали з використанням ANOVA за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія) з наступною оцінкою двостороннім t-критерієм ( $P < 0,05$ ). Проводили порівняння між групами обробки за допомогою нормалізованих значень рівня домінування у тварин в парі. Рівень домінування являв собою значення, за допомогою якого вимірювали соціальні взаємовідносини між суб'єктами в парі. Рівень домінування (DL) = FTD-FTS, де FTD являє собою час, проведений біля годівниці домінантними щурами, а FTS являє собою час, проведений біля годівниці з підкореними щурами. Нормалізацію здійснювали відповідно до формули:

$$\text{рівень домінування (тиждень, } n \text{ у } \%) = \frac{\text{рівень домінування (тиждень, } n)}{\text{рівень домінування (тиждень 2)}}.$$

Статистичну значущість різниці рівня домінування між контрольною групою (пари щурів, де як домінантних, так і підкорених тварин обробляли інертною речовиною) і групою обробки (підкорених щурів обробляли лікарським засобом, а домінантних щурів інертною речовиною) визначали за допомогою ANOVA з наступною оцінкою t-критерієм. Значення часу до початку дії на рівні 50 % реакції (AOT-50) і мінімальну, і максимальну реакцію на лікарський засіб з урахуванням зменшення значення рівня домінування розраховували за допомогою аналізу нелінійної регресії (GraphPad Software, Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія). Для даних розрахунків використовували нормалізовані значення DL, де значення DL для тижнів обробки нормалізували у вигляді відсоткового значення другого тижня (до обробки) такої пари

відповідно до наведеної вище формули. При таких параметрах мінімальна реакція (DL) вказувала на позитивну активність лікарського засобу відповідно до ефективності, оскільки значення DL зменшувалися, якщо реакція на лікарський засіб була позитивною. У випадку негативної реакції на лікарський засіб (зростання вираженості симптомів) значення DL підвищувалися. Якщо лікарський засіб не проявляв таку активність, тоді максимальна реакція не перевищувала 100 %. Будь-яке максимальне значення DL, яке суттєво перевищує контрольне значення (приблизно 100 %), свідчило про негативну активність лікарського засобу.

Леветирацетам та PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2 (наприклад, сполуки 2, 2-а, 25-а, 6-б або LY-404039) оцінювали в щурчій моделі RDBM відповідно до процедури, описаної більш детально нижче.

Групи домінантних щурів обробляли р.о. QD леветирацетамом, 10 мг/кг, і сполукою PAM mGluR2/сполукою-агоністом mGluR2 в різних концентраціях від приблизно 0,05 мг/кг ( $n \geq 3$ ), в кількості 0,5 мг/кг ( $n \geq 3$ ), в кількості 2,5 мг/кг ( $n \geq 3$ ), в кількості 5,0 мг/кг ( $n \geq 3$ ) і в кількості 50,0 мг/кг ( $n \geq 3$ ). Одну контрольну групу домінантних щурів з інертною речовиною обробляли з використанням 0,5 % метилцелюлози ( $n \geq 3$ ), а другу контрольну групу домінантних щурів обробляли і.р. QD вальпроатом натрію при 30 мг/кг ( $n \geq 6$  після 2 досліджень  $n \geq 3$  кожна).

Всі обробки проводили приблизно за 1 годину до проведення тестування. Всі обробки розпочинали в суботу після другого тижня тестування (тиждень відбору). Леветирацетам та PAM mGluR2/сполука-агоніст mGluR2 вводили перорально (р.о.).

Якщо домінантних тварин обробляли леветирацетамом в дозі 10 мг/кг і сполукою PAM mGluR2/сполукою-агоністом mGluR2, то різниця між домінантною і підкореною тваринами зникала після першого або другого тижня обробки в залежності від дозування. Аналогічним чином, якщо домінантних тварин обробляли вальпроатом натрію, то різниця між домінантними і підкореними щурами також зникала після першого тижня обробки. Можна було спостерігати підвищення терплячості у домінантних щурів, оброблених леветирацетамом і PAM mGluR2/сполукою-агоністом mGluR2 або вальпроатом натрію. Так, оброблені домінантні щури дозволяли своїм підкореним партнерам збільшувати свій час перебування біля годівниці.

Для порівняння різних лікарських засобів та їх ефектів доз дані нормалізували щодо вихідних значень контрольного тижня. Найбільш сильний ефект комбінації леветирацетаму та PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2 спостерігали у тому випадку, коли була суттєва різниця значень рівня домінування (DL) між щурами, обробленими інертною речовиною і комбінацією, розпочинаючи з другого тижня і продовжуючи протягом періоду обробки до 5 тижнів. При порівнянні тварини (30 мг/кг), яких обробляли вальпроатом натрію, стійко демонстрували знижений рівень домінування після другого тижня обробки, при цьому ефект збільшувався в наступні тижні.

Для оцінки часу до початку дії (AOT) щоденні середні значення часу, проведеного біля годівниці, для пар домінантної і підкореної тварин наносили на графік і розраховували значущі різниці між цими двома групами за допомогою двостороннього t-критерію.

Для порівняння часу до початку дії (AOT) між різними обробками час до початку дії оцінювали за допомогою графіка нелінійної регресії. Модель нелінійної регресії давала графік для кожного лікарського засобу, комбінації і щоденних значень DL, нормалізованих для дози.

Ефекти леветирацетаму та PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2 в RDBM потенційно були залежними від дози.

Відповідно до цього аналізу комбінація леветирацетаму та PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2 потенційно зменшувала домінантну поведінку, що свідчило про те, що комбінація є активною як протиманіакального засобу.

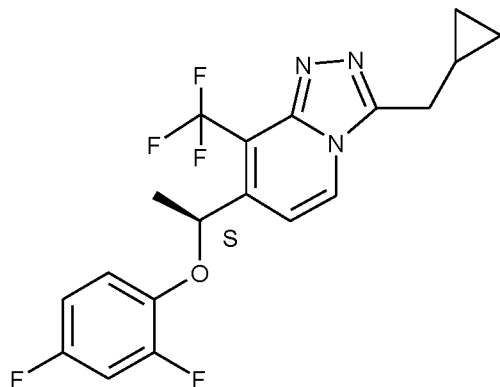
#### В) ТАБЛЕТКИ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИЙОМУ

Як конкретний варіант здійснення композиції для перорального прийому 100 мг PAM mGluR2/сполуки-агоніста mGluR2 складали з достатньо тонкодисперсної лактози з одержанням загальної кількості від 580 до 590 мг для заповнення твердої желатинової капсули розміром 0.

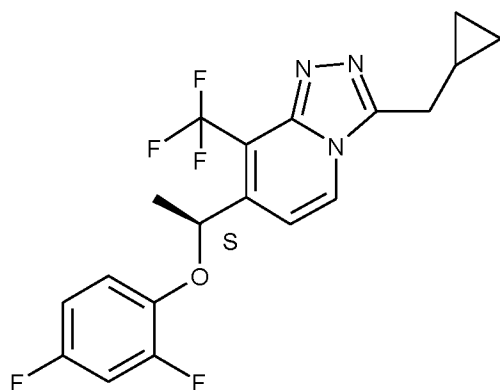
Незважаючи на те, що у вище наведеному описі викладені основні ідеї даного винаходу, за допомогою прикладів, наведених з ілюстративною метою, зрозуміло, що практичне здійснення даного винаходу охоплює всі звичайні варіанти, адаптації та/або модифікації, які підпадають під обсяг наведеної далі формули винаходу, та їх еквіваленти.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

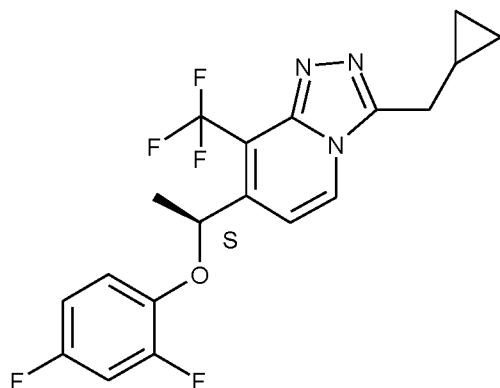
1. Комбінація для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю і біполярних та споріднених з ними розладів, яка містить:
- 5 (а) ліганд білка синаптичних везикул 2A ("SV2A"), вибраний з групи, яка складається з леветирацетаму та бриварацетаму; і
- (б) сполуку формули (I-B)



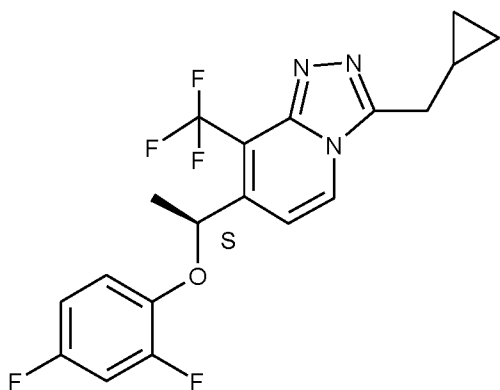
- 10 або її фармацевтично прийнятну сіль.
2. Комбінація за п. 1, де сполука являє собою її хлористоводневу сіль.
3. Комбінація за п. 1, де сполука



- являє собою вільну основу.
- 15 4. Комбінація за п. 3, де сполука являє собою:



- і ліганд SV2A являє собою леветирацетам.
5. Комбінація за п. 3, де сполука являє собою:

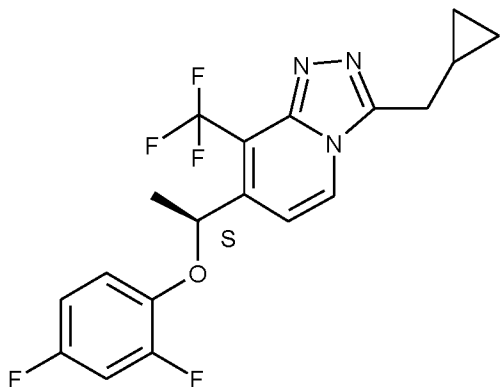


і ліганд SV2A являє собою бриварацетам.

6. Фармацевтична композиція, яка містить комбінацію за будь-яким із пп. 1-5 і фармацевтично прийнятний носій.

5 7. Спосіб одержання фармацевтичної композиції за п. 6, де комбінацію за будь-яким із пп. 1-5 ретельно змішують з фармацевтичним носієм.

8. Застосування сполуки формули



10 в комбінації з лігандом SV2A, вибраним із групи, що складається з леветирацетаму та бриварацетаму, для лікування або попередження епілепсії і споріднених із нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і споріднених із ними розладів.

9. Застосування за п. 8, де сполука і ліганд SV2A, вибраний із групи, що складається з леветирацетаму та бриварацетаму, призначені для застосування у вигляді окремих лікарських форм.

10. Застосування за п. 8 або 9 для лікування епілепсії і споріднених із нею розладів.

11. Застосування за п. 10, де епілепсія і споріднені з нею розлади вибрані з парціальних нападів з генералізацією або без неї, міоклонічних нападів, первинних генералізованих тоніко-клонічних нападів і стійкої до лікування або рефрактерної епілепсії.

12. Застосування за п. 11, де первинні генералізовані тоніко-клонічні напади відбуваються у пацієнтів з ідіопатичною генералізованою епілепсією.

13. Застосування за п. 11, де рефрактерна епілепсія являє собою рефрактерну парціальну епілепсію або рефрактерну генералізовану епілепсію.

14. Застосування за п. 8 або 9 для лікування біполярних і споріднених з ними розладів.

15. Застосування за п. 14, де розлад являє собою біполярний розлад I типу.

16. Застосування за п. 14, де розлад являє собою біполярний розлад II типу.

17. Застосування за п. 14, де розлад являє собою циклотимічний розлад.

18. Застосування за п. 14, де депресивна і маніакальна фази є циклічними.

19. Застосування комбінації за будь-яким із пп. 1-5 для одержання лікарського препарату для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю, біполярних і споріднених з ними розладів.

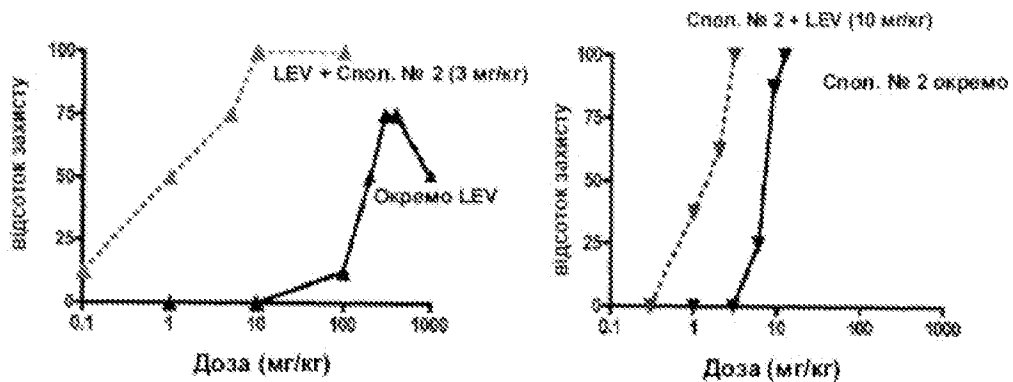
20. Застосування за п. 19, де лікарський препарат призначений для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів.

21. Застосування за п. 20, де епілепсія і споріднені з нею розлади вибрані з парціальних нападів з генералізацією або без неї, міоклонічних нападів, первинних генералізованих тоніко-клонічних нападів і стійкої до лікування або рефрактерної епілепсії.

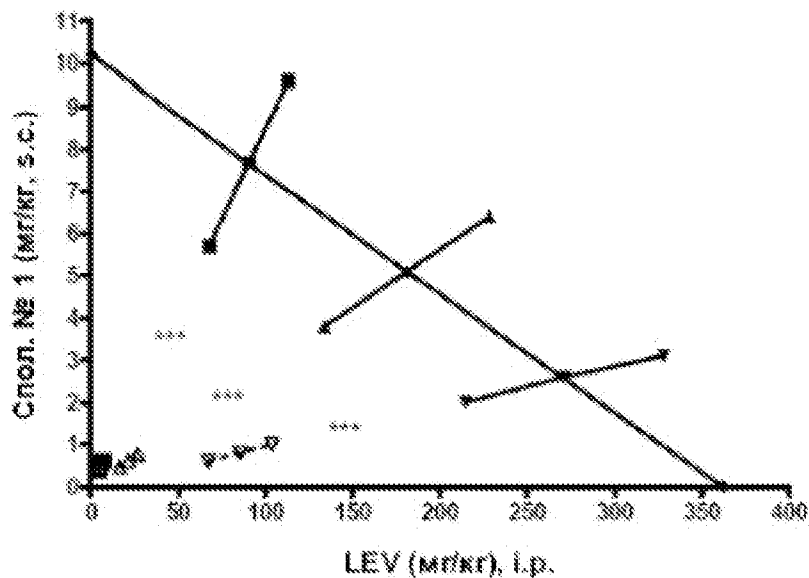
22. Застосування за п. 21, де первинні генералізовані тоніко-клонічні напади відбуваються у пацієнтів з ідіопатичною генералізованою епілепсією.
23. Застосування за п. 21, де рефрактерна епілепсія являє собою рефрактерну парціальну епілепсію або рефрактерну генералізовану епілепсію.
- 5 24. Застосування за п. 19, де лікарський препарат призначений для лікування біполярних і споріднених з ними розладів.
25. Застосування за п. 24, де розлад являє собою біполярний розлад I типу.
26. Застосування за п. 24, де розлад являє собою біполярний розлад II типу.
27. Застосування за п. 24, де розлад являє собою циклотимічний розлад.
- 10 28. Застосування за п. 24, де депресивна і маніакальна фази є циклічними.
29. Застосування фармацевтичної композиції, яка визначена в п. 6, як лікарського засобу для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів, невропатичного болю, мігрені або стійкого головного болю і біполярних і споріднених з ними розладів.
- 15 30. Застосування за п. 29 для лікування або попередження епілепсії і споріднених з нею розладів.
31. Застосування за п. 29 для лікування або попередження біполярних і споріднених з ними розладів.

Спол. № 2 підвищує активність і ефективність леветирacetаму в тесті при стимуляції в 6 Гц (44 мА)

Леветирacetам підвищує ефективність спол. № 2 в тесті при стимуляції в 6 Гц (44 мА)



Фіг. 1



Фіг. 2

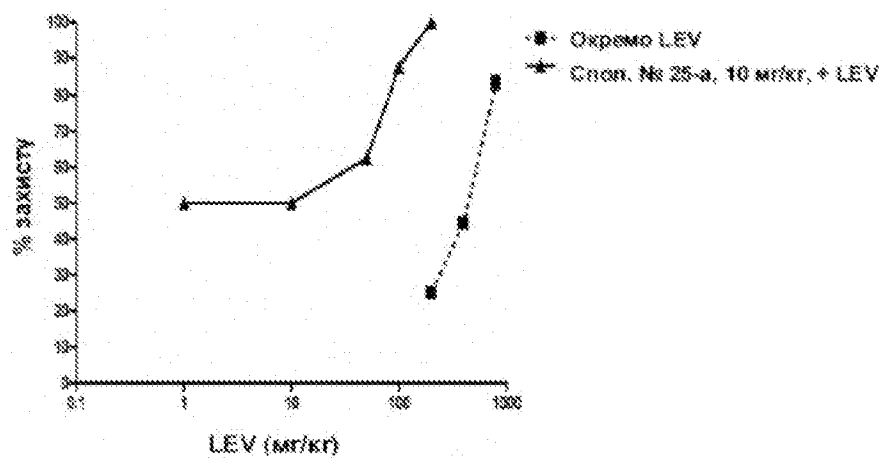


Fig. 3

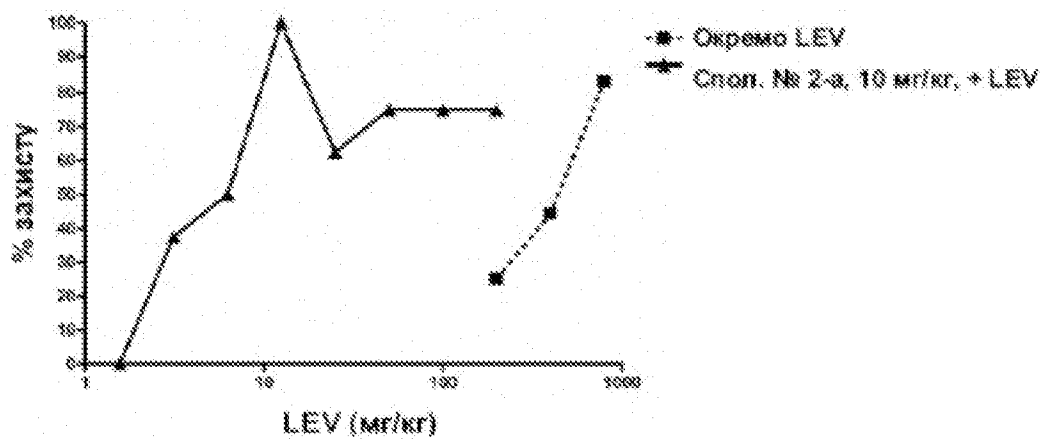


Fig. 4

5

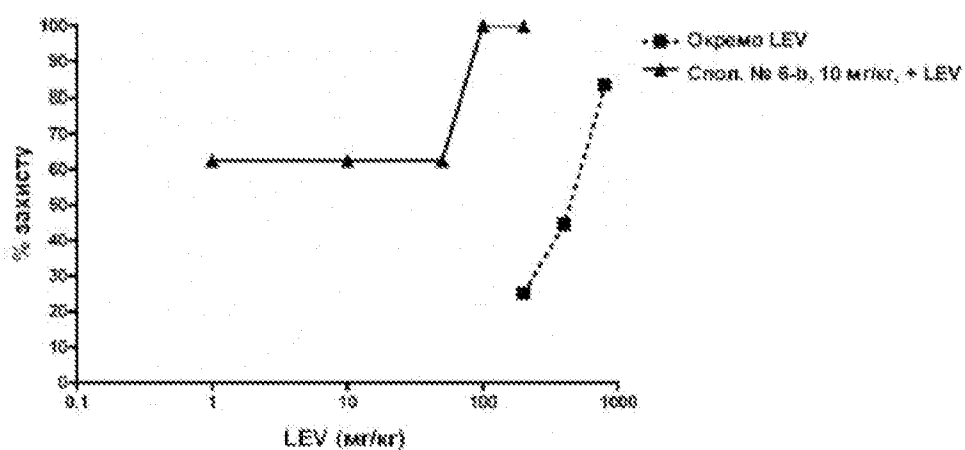


Fig. 5

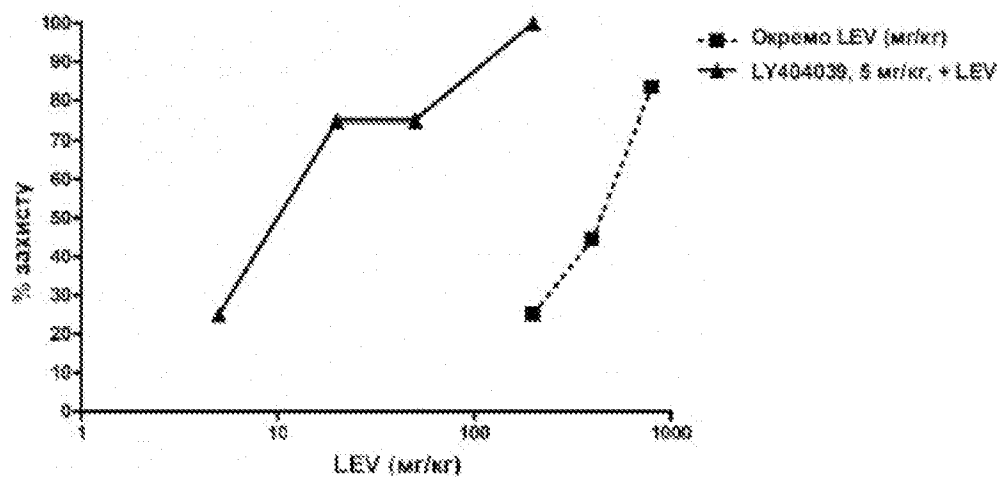


Fig. 6