



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2015.09.30

(21) Номер заявки
201170130

(22) Дата подачи заявки
2009.07.03

(51) Int. Cl. C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/538 (2006.01)
A61K 31/5415 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)

(54) БЕНЗОКСАЗИНЫ, БЕНЗОТИАЗИНЫ И РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ,
ОБЛАДАЮЩИЕ ИНГИБИРУЮЩЕЙ NOS АКТИВНОСТЬЮ

(31) 61/133,887

(32) 2008.07.03

(33) US

(43) 2011.08.30

(86) PCT/CA2009/000923

(87) WO 2010/000073 2010.01.07

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НЬЮРЭКСОН, ИНК. (CA)

(56) WO-2008100463

Indian Journal of Chemistry, July 1990, vol.
29B, p. 697-699 (RAM et al.), see whole document, in
particular compound III (a-k)

US-5521145

US-A1-20060258721

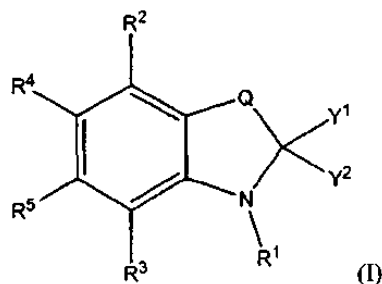
CA-2643822

CA-2607219

(72) Изобретатель:
Рамно Джайлялль, Аннеди Субхаш
К., Силверман Сара, Дав Питер,
Мэдафорд Шон, Ракхит Суман (CA)

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

(57) Рассмотрены бензоксазины и бензотиазины формулы (I), где Q представляет собой O-(CHR)⁶₁₋₃ или S-(CHR)₁₋₃; R¹ представляет собой H, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил или -(CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D}; каждый из R² и R³ представляет собой независимо H, галоген или необязательно замещенный C₁₋₆алкил, каждый из R⁴ и R⁵ представляет собой независимо H, галоген, (CH₂)₂NHC(NH)R^{2A}; где r2 равно целому числу от 0 до 2; каждый из Y¹ и Y² представляет собой H, или Y¹ и Y² вместе обозначают =O, или Y¹ и Y² представляют собой независимо H или необязательно замещенный C₁₋₆алкил; где по крайней мере один из R⁴ и R⁵ представляет собой (CH₂)₂NHC(NH)R^{2A}; R⁶ представляет собой H или необязательно замещенный C₁₋₆алкил; или их фармацевтически приемлемая соль. Кроме того, предложены фармацевтическая композиция и способ лечения или предотвращения состояния у млекопитающего, вызванного действием (оксид азота)-синтазы (NOS).



(I)

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По заявке на данный патент испрашивается приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 61/133887, зарегистрированной 3 июля 2008 г., которая таким образом включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Уровень техники изобретения

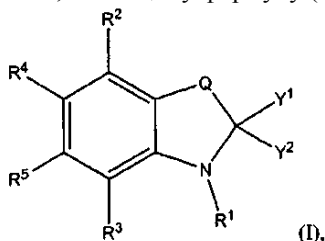
Настоящее изобретение относится к области производных бензоксазинов, бензотиазинов и родственных соединений и их лекарственному применению.

Оксид азота (NO) играет разные роли как в нормальных, так и патологических процессах, включающих регуляцию кровяного давления, участие в нейротрансмиссии и в системах защиты макрофагов (Snyder, S.H. and Bredt, D.S., Scientific American, May; 266(5) 1992:68). NO синтезируется тремя изоформами (оксид азота)-синтазы, конститутивной формой в эндотелиальных клетках (eNOS), конститутивной формой в нейронных клетках (nNOS) и индуцируемой формой, найденной в клетках макрофагов (iNOS). Эти ферменты являются гомодимерными белками, которые катализируют окисление пяти электронов L-аргинина, образуя NO и цитруллин. Роль NO, продуцируемого каждой из изоформ NOS, является действительно уникальной. Чрезмерная стимуляция или чрезмерное продуцирование индивидуальных изоформ NOS, особенно nNOS и iNOS, играет роль в нескольких нарушениях, включающих септический шок, артрит (Boughton-Smith et al., IDrugs 1:321-334, 1998 and Cochrane et al., Med Res. Rev. 16: 547-563, 1996), диабет, повреждение при ишемии-реперфузии, боль (Larson et al., Pain 86:103-111, 2000) и различные нейродегенеративные заболевания (Kerwin et al., J. Med. Chem. 38:4343, 1995), тогда как ингибирование eNOS приводит к нежелательным эффектам, таким как повышенная активация лейкоцитов и тромбоцитов, гипертензия и повышенный атерогенез (Valance et al., Nature Rev. Drug Disc. 1:939, 2002).

Ингибиторы NOS имеют потенциал для применения в качестве терапевтических средств при многих нарушениях. Однако сохранение физиологически важной функции (оксид азота)-синтазы предполагает желательность развития изоформа-селективных ингибиторов, которые предпочтительно ингибируют nNOS или nNOS и iNOS по сравнению с eNOS. В частности, селективные ингибиторы NOS, особенно ингибиторы nNOS или iNOS являются кандидатами для применения при лечении хронических болезненных состояний, таких как невропатическая боль, хроническая головная боль напряжения или трансформированная мигрень, при которых болезненное состояние является результатом устойчивости периферической и/или центральной сенсibilизации.

Сущность изобретения

Изобретение относится к соединению, имеющему формулу (I)



где Q представляет собой O-(CHR⁶)₁₋₃ или S-(CHR⁶)₁₋₃;

R¹ представляет собой H, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил или -(CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D};

R^{1A} и R^{1B} представляют собой, независимо, H, гидроксигруппу, галоген, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₆алкокси, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероарил, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил или необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или R^{1A} и R^{1B} объединяются с образованием =O;

R^{1C} и R^{1D} представляют собой, независимо, H, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₆алкокси, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероарил, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или N-защитную группу или R^{1C} и R^{1D} объединяются с образованием необязательно замещенного C₂₋₉гетероцикла;

n равно целому числу 1-6;

каждый из R² и R³ представляет собой, независимо, H, галоген или необязательно замещенный C₁₋₆алкил,

каждый из R⁴ и R⁵ представляет собой, независимо, H, галоген, (CH₂)₁₂NHC(NH)R^{2A};

где r2 равно целому числу от 0 до 2;

R^{2A} представляет собой необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл;

где каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H, или Y^1 и Y^2 вместе обозначают =O, или Y^1 и Y^2 представляют собой, независимо, H или необязательно замещенный C_{1-6} алкил;

по крайней мере один из R^4 и R^5 представляет собой $(CH_2)_{1-2}NHC(NH)R^{2A}$;

R^6 представляет собой H или необязательно замещенный C_{1-6} алкил,

или его фармацевтически приемлемой соли, где C_{2-9} гетероцикл содержит от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; гетероциклический остаток в C_{1-4} алкгетероциклической группе представляет собой C_{2-9} гетероцикл, содержащий от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; гетероарильный остаток в C_{1-4} алкгетероарильной группе представляет собой C_{2-9} гетероарил, содержащий от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; и арильный остаток в C_{1-4} алкарильной группе представляет собой C_{6-10} арил;

где необязательные заместители для алкила выбраны из (1) алкокси с атомами углерода от одного до шести; (2) amino; (3) циклоалкила с атомами углерода от трех до восьми; (4) галогена; (5) гетероцикла; (6) гидрокси; (7) N-защитного amino; (8) оксо; (9) $-CO_2R^A$, где R^A выбран из алкила или водорода; (10) $-C(O)NR^BR^C$, где каждый из R^B и R^C независимо выбран из водорода или алкила; и (11) $-NR^GR^H$, где каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) N-защитной группы и (c) алкила с числом атомов углерода от одного до шести;

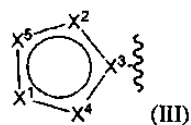
необязательные заместители для арила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) aminoалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода, (11) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила, (12) перфторалкила; и (13) перфторалкокси;

необязательные заместители для циклоалкила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, где алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) aminoалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) оксо; (11) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода, (12) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила; (13) перфторалкила и (14) перфторалкокси;

необязательные заместители для гетероцикла или гетероарила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) aminoалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) оксо; (11) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода; (12) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила; (13) перфторалкила; (14) перфторалкокси.

В предпочтительных вариантах воплощения Q представляет собой $-O-(CHR^6)_{1-2}$ или $-S-(CHR^6)_{1-2}$ и R^1 представляют собой H, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{1-4} алкарил, необязательно замещенный C_{1-4} алкгетероцикл или необязательно замещенный C_{2-9} гетероцикл.

В предпочтительных вариантах воплощения R^{2A} имеет формулу



и каждый из X^1 , X^2 , X^4 и X^5 независимо выбран из O, S, NR^7 , N или CR^8 ;

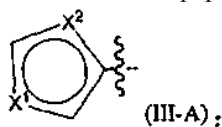
X^3 выбран из N или C;

R^7 представляет собой H или необязательно замещенный C_{1-6} алкил;

R^8 представляет собой H, галоген, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, гидрокси или необязательно замещенный C_{1-6} алкокси;

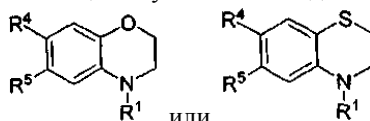
по меньшей мере один из X^1 , X^2 , X^4 и X^5 не является CR^8 .

Причем наиболее предпочтительно, когда R^{2A} имеет формулу

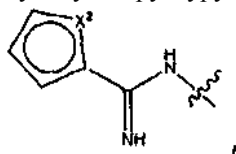


и каждый из X^1 и X^2 независимо выбран из O, S, NH, N или CH и по меньшей мере один из X^1 и X^2 не является CH.

В предпочтительных вариантах воплощения указанное соединение имеет структуру, выбранную из

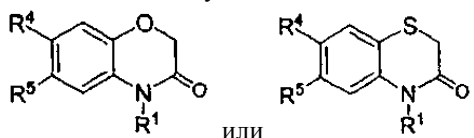


и у которой один из R^4 и R^5 имеет следующую структуру:

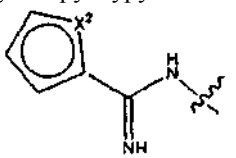


где X^2 представляет собой O или S.

В предпочтительных вариантах воплощения указанное соединение имеет структуру, выбранную из



и где один из R^4 и R^5 имеет следующую структуру:



где X^2 представляет собой O или S.

В предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой O-CHR⁶.

В других предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой S-CHR⁶.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой O-CHR⁶.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой S-CHR⁶.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой O-(CHR⁶)₂.

В других предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой S-(CHR⁶)₂.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой S-(CHR⁶)₂.

В других предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой O-(CHR⁶)₂.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой O-(CHR⁶)₃.

В других предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой S-(CHR⁶)₃.

В других предпочтительных вариантах воплощения Y^1 и Y^2 вместе образуют =O и Q представляет собой S-(CHR⁶)₃.

В других предпочтительных вариантах воплощения каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой H и Q представляет собой O-(CHR⁶)₃.

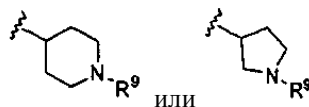
В других предпочтительных вариантах воплощения R^1 представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл.

Причем наиболее предпочтительно, когда R^1 представляет собой необязательно замещенный аминос₁₋₆алкил.

Ещё один наиболее предпочтительный вариант, когда R^1 представляет собой необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, где указанный гетероцикл представляет собой 5- или 6-членный циклический амин. Причем указанный циклический амин может быть замещен карбоновой кислотой, сложным C₁₋₆эфиром или амидом.

Ещё один наиболее предпочтительный вариант, когда R^1 представляет собой необязательно заме-

щенный C_{2-9} гетероцикл. Причем указанный гетероцикл может представлять собой необязательно замещенный пирролидинил или необязательно замещенный пиперидинил. В частности, R^1 может представлять собой



где R^9 представляет собой H, необязательно замещенный C_{1-6} алкил или необязательно замещенный C_{1-4} алкарил. Причем R^9 может представлять собой H.

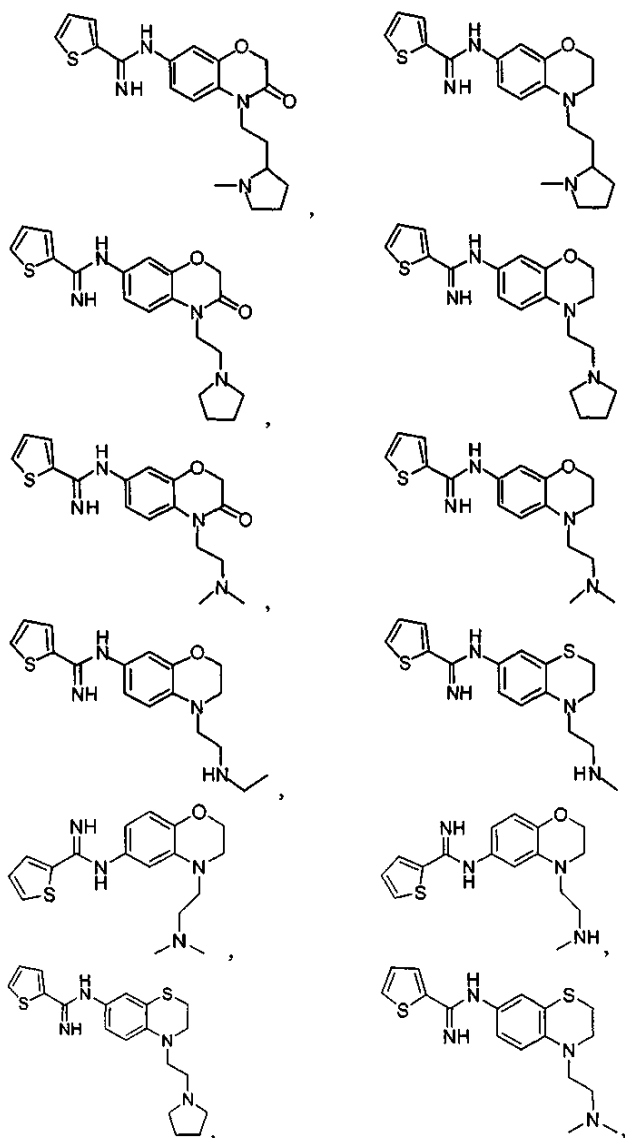
В других предпочтительных вариантах воплощения R^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_8 циклоалкил или $-(CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D}$. Например, R^1 может представлять собой $(CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D}$. Причем каждый из R^{1A} и R^{1B} может представлять собой H и n равно 2 или 3.

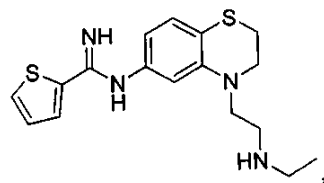
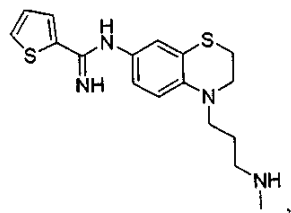
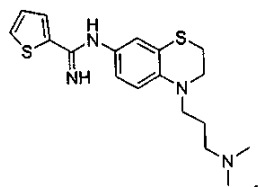
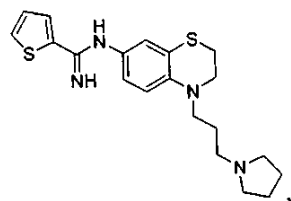
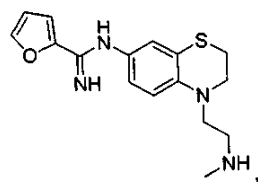
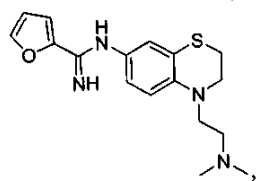
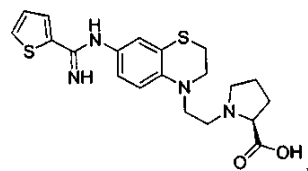
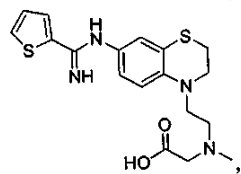
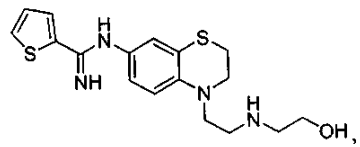
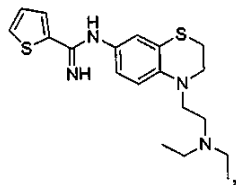
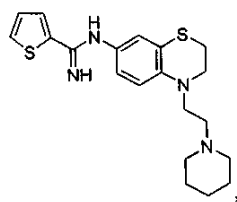
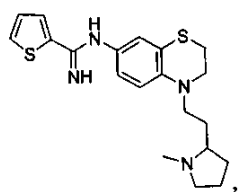
В предпочтительном варианте R^{1C} может представлять собой H и R^{1D} представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-(CH_2)_2OH$ или $-CH_2CO_2H$ или R^{1C} и R^{1D} соединяются с образованием необязательно замещенного пирролидинила или необязательно замещенного пиперидинила.

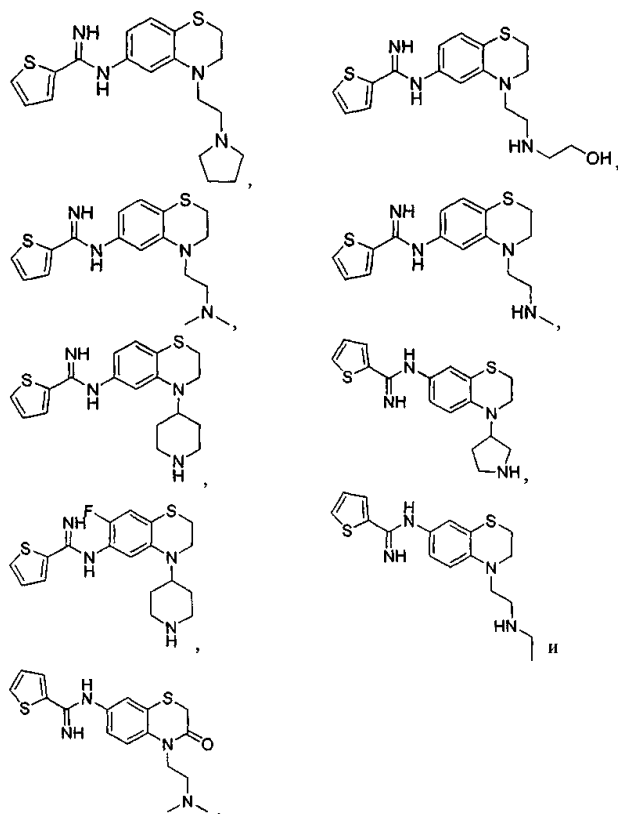
В других предпочтительных вариантах воплощения R^1 может представлять собой $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$ или $-CH_2CH_2NHCH_3$.

В других предпочтительных вариантах воплощения R^1 представляет собой C_3 - C_8 циклоалкил, замещенный амино.

В других предпочтительных вариантах воплощения один из R^4 или R^5 представляет собой H или F. Еще одним объектом изобретения является соединение, выбранное из группы, состоящей из

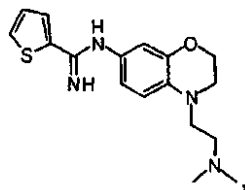






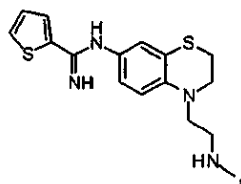
или их фармацевтически приемлемых солей.

Ещё одним другим объектом изобретения является соединение, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

Ещё одним другим объектом изобретения является соединение, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

Ещё одним другим объектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая любое охарактеризованное выше соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Ещё одним другим объектом изобретения является способ лечения или предотвращения состояния у млекопитающего, вызванного действием (оксид азота)-синтазы (NOS), где указанный способ включает введение эффективного количества любого охарактеризованного выше соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли указанному млекопитающему, предпочтительно человеку. При этом указанное состояние может представлять собой головную боль, невропатическую боль, хроническую воспалительную боль, висцеральную боль, нейровоспаление, индуцированную лекарственными средствами гипералгезию и/или аллодинию, острую боль, хроническую боль, боль при раке костей, химическую зависимость или аддикцию, нарушение ЦНС, нейродегенеративное заболевание или повреждение нерва, связанное с сердечно-сосудистой системой состояние или желудочно-кишечное нарушение. При этом указанной головной болью может быть головная боль типа мигрени (с аурой или без нее), хроническая головная боль напряжения (СТГН), мигрень с аллодинией, головная боль вследствие чрезмерного употребления лекарственных средств, кластерная головная боль, хроническая головная боль или трансформированная мигрень. В другом варианте указанной головной болью может быть головная боль с лежащим в ее основе механизмом центральной сенсibilизации. Указанная хроническая боль может иметь

компоненты центральной сенсibilизации либо представлять собой невропатическую боль. Причем указанная невропатическая боль может представлять собой связанную со СПИД болезненную невропатию, центральную боль после инсульта (CPSP), диабетическую невропатию, невропатическую боль, индуцированную химиотерапией, постгерпетическую невралгию или тригеминальную невралгию. Предпочтительно, когда указанная невропатическая боль представляет собой постгерпетическую невралгию.

В предпочтительном варианте указанная выше хроническая воспалительная боль может быть результатом остеоартрита, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, псориатического артрита, недифференцированной спондилоартропатии или воспалительного артрита.

В предпочтительном варианте индуцированная лекарственным средством гипералгезия или аллодиния может представлять собой индуцированную опиоидом гипералгезию/аллодинию или индуцированную триптанами (5-HT_{1D/1B}-агонисты) гипералгезию или аллодинию. Причем указанная индуцированная химиотерапией невропатическая боль может быть индуцирована паклитакселом, цис-платином или доксорубицином.

Указанная выше химическая зависимость или аддикция может представлять собой аддикцию к употреблению лекарственного средства; аддикцию к употреблению кокаина; аддикцию к никотину; индуцированную метамфетамином нейротоксичность; этанольную толерантность, этанольную зависимость или этанольную абстиненцию, индуцированную морфином/опиоидом толерантность, индуцированную морфином/опиоидом зависимость, индуцированную морфином/опиоидом гипералгезию или индуцированную морфином/опиоидом абстиненцию.

Указанное выше нарушение ЦНС может представлять собой эпилепсию, тревогу, депрессию, синдром дефицита внимания и гиперактивности (ADHD), психоз или деменцию.

Указанное выше нейродегенеративное заболевание или повреждение нерва может представлять собой острое повреждение спинного мозга, связанная со СПИД деменция, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Хантингтона, рассеянный склероз, нейротоксичность или травма головы.

Указанное связанное с сердечно-сосудистой системой состояние может представлять собой инсульт, связанное с обходным сосудистым шунтом коронарной артерии (CABG) неврологическое нарушение, гипотермическую задержку работы сердца (HCA), боль после инсульта, кардиогенный коллапс (при инфаркте миокарда), повреждение при реперфузии или васкулярная деменция.

Указанное желудочно-кишечное нарушение может представлять собой связанную с илеостомией диарею или демпинг-синдром.

Указанное выше состояние у млекопитающего, вызванное действием (оксид азота)-синтазы (NOS), может представлять собой висцеральную боль.

Указанное выше состояние у млекопитающего, вызванное действием (оксид азота)-синтазы (NOS), может представлять собой инсульт, повреждение при реперфузии, нейродегенерация, травма головы, обходной сосудистый шунт коронарной артерии (CABG), мигрень с аллодинией, центральная боль после инсульта (CPSP) или индуцированная морфином/опиоидом гипералгезия.

Охарактеризованное выше соединение общей формулы (I) может представлять собой гидрохлоридную соль.

Другие отличительные признаки и преимущества будут очевидны из нижеследующего описания и формулы изобретения.

Определения.

Термин "C_{x-y}алкарил", применяемый в контексте, означает химический заместитель формулы -RR', где R представляет собой алкиленовую группу с числом атомов углерода от x до y и R' представляет собой арильную группу, определяемую в контексте. Аналогично этому, термин "C_{x-y}алкгетероарил" означает химический заместитель формулы -RR'', где R представляет собой алкиленовую группу с числом атомов углерода от x до y и R'' представляет собой гетероарильную группу, определяемую в контексте. Другие группы, которым предшествует префикс "алк-", определяются таким же образом. Примерные незамещенные алкарильные группы содержат от 7 до 16 атомов углерода.

Термин "алкилциклоалкил" представляет собой циклоалкильную группу, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через алкиленовую группу.

Термин "алкгетероцикл" представляет собой гетероциклическую группу, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через алкиленовую группу. Примерные незамещенные алкгетероциклические группы содержат от 2 до 14 атомов углерода.

Термин "алкокси" представляет собой химический заместитель формулы -OR, где R представляет собой алкильную группу с 1-6 атомами углерода, если не указано иначе.

Термин "алкоксиалкил" представляет собой алкильную группу, которая замещена алкоксигруппой. Примерные незамещенные алкоксиалкильные группы включают от 2 до 12 атомов углерода.

Термины "алкил" и префикс "алк-", применяемые в контексте, включают насыщенные группы как с неразветвленной, так и разветвленной цепью, содержащие от 1 до 6 атомов углерода, если не указано иначе. Примерами алкильных групп являются метил, этил, n- и изопропил, n-, втор-, изо- и трет-бутил, неопентил и т.п. и они могут быть необязательно замещены одним, двумя, тремя или, в случае алкиль-

ных групп с двумя или более атомами углерода, четырьмя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из (1) алкокси с атомами углерода от одного до шести; (2) алкилсульфинила с атомами углерода от одного до шести; (3) алкилсульфонилла с атомами углерода от одного до шести; (4) amino; (5) арила; (6) арилалкокси; (7) арилоила; (8) азидо; (9) карбоксальдегида; (10) циклоалкила с атомами углерода от трех до восьми; (11) галогена; (12) гетероциклила; (13) (гетероцикл)окси; (14) гетероциклоила; (15) гидрокси; (16) N-защитного амина; (17) нитро; (18) оксо; (19) спироциклила с атомами углерода от трех до восьми; (20) тиоалкокси с атомами углерода от одного до шести; (21) тиола; (22) $-\text{CO}_2\text{R}^A$, где R^A выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила, (c) алкарила и (d) водорода, где алкиленовая группа содержит от одного до шести атомов углерода; (23) $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^B\text{R}^C$, где каждый из R^B и R^C независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (24) $-\text{SO}_2\text{R}^D$, где R^D выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила и (c) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (25) $-\text{SO}_2\text{NR}^E\text{R}^F$, где каждый из R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; и (26) $-\text{NR}^G\text{R}^H$, где каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) N-защитной группы; (c) алкила с числом атомов углерода от одного до шести; (d) алкенила с числом атомов углерода от двух до шести; (e) алкинила с числом атомов углерода от двух до шести; (f) арила; (g) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (h) циклоалкила с числом атомов углерода от трех до восьми; и (i) алкциклоалкила, где циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода, где в одном варианте осуществления две группы не связываются с атомом азота через карбонильную группу или сульфонильную группу.

Термин "алкилен", применяемый в контексте, представляет собой насыщенную двухвалентную углеводородную группу, образованную из насыщенного углеводорода с неразветвленной или разветвленной цепью удалением двух атомов водорода, и примерами ее являются метилен, этилен, изопропилен и т.п.

Термин "амино", применяемый в контексте, представляет собой $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^{\text{N}1}$ или $-\text{N}(\text{R}^{\text{N}1})_2$, где каждый $\text{R}^{\text{N}1}$ независимо представляет собой H, OH, NO_2 , NH_2 , $\text{NR}^{\text{N}2}$, $\text{SO}_2\text{OR}^{\text{N}2}$, $\text{SO}_2\text{R}^{\text{N}2}$, $\text{SOR}^{\text{N}2}$, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{1-6} алкокси, необязательно замещенный C_{1-4} алкциклоалкил, необязательно замещенный C_{1-4} алкарил, необязательно замещенный C_{1-4} алкгетероциклил, необязательно замещенный C_{1-4} алкгетероарил, необязательно замещенный C_{3-8} циклоалкил, необязательно замещенный C_{2-9} гетероциклил или N-защитную группу или два $\text{R}^{\text{N}1}$ соединяются с образованием необязательно замещенного C_{2-9} гетероциклила или N-защитной группы, и где каждый $\text{R}^{\text{N}2}$ независимо представляет собой H, необязательно замещенную алкильную группу или необязательно замещенную арильную группу.

В предпочтительном варианте осуществления амино представляет собой $-\text{NH}_2$ или $-\text{NHR}^{\text{N}1}$, где каждый $\text{R}^{\text{N}1}$ независимо представляет собой OH, NO_2 , NH_2 , $\text{NR}^{\text{N}2}$, $\text{SO}_2\text{OR}^{\text{N}2}$, $\text{SO}_2\text{R}^{\text{N}2}$, $\text{SOR}^{\text{N}2}$, необязательно замещенную алкильную группу или необязательно замещенную арильную группу и каждый $\text{R}^{\text{N}2}$ может быть H, необязательно замещенной алкильной группой или необязательно замещенной арильной группой.

Термин "аминоалкил", применяемый в контексте, представляет собой алкильную группу, определяемую в контексте, замещенную аминогруппой.

Термин "арил", применяемый в контексте, представляет собой моно- или бициклическую карбоциклическую систему колец, имеющую одно или два ароматических кольца, и примерами такого термина являются фенил, нафтил, 1,2-дигидронафтил, 1,2,3,4-тетрагидронафтил, флуоренил, инданил, инденил и т.п. и арил может быть необязательно замещен одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из (1) алканоила, содержащего от одного до шести атомов углерода; (2) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (4) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (5) алкилсульфинила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) алкилсульфинилалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (7) алкилсульфонилла, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) алкилсульфонилалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (9) арила; (10) amino; (11) аминоалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (12) гетероарила; (13) алкарила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (14) арилоила; (15) азидо; (16) азидоалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (17) карбоксальдегида; (18) (карбоксальдегид)алкила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (19) циклоалкила, имеющего от трех до восьми атомов углерода; (20) алкциклоалкила, у которого циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода, и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; (21) галогена; (22) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (23) гетероциклила; (24) (гетероциклил)окси; (25) (гетероциклил)оила; (26) гидрокси; (27) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (28) нит-

ро; (29) нитроалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (30) N-защитной группы; (31) N-защищенного аминоксилка, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (32) оксо; (33) тиаалкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (34) тиаалкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (35) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила, (c) алкарила и (d) водорода, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (36) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (37) $-(CH_2)_qSO_2R^D$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^D выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила и (c) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (38) $-(CH_2)_qSO_2NR^ER^F$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (39) $-(CH_2)_qNR^GR^H$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода; (b) N-защитной группы; (c) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (d) алкенила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (e) алкинила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (f) арила, (g) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (h) циклоалкила, имеющего от трех до восьми атомов углерода; и (i) алкциклоалкила, у которого циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; где в одном варианте осуществления две группы не связаны с атомом азота через карбонильную группу или сульфонильную группу; (40) тиола; (41) перфторалкила; (42) перфторалкокси; (43) арилокси; (44) циклоалкокси; (45) циклоалкилалкокси и (46) арилалкокси.

Термин "карбонил", применяемый в контексте, представляет собой группу C(O), которую можно также представить как C=O.

Термин "карбоксальдегид" представляет собой группу CHO.

Термин "карбоксальдегидалкил" представляет собой карбоксальдегидную группу, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через алкиленовую группу.

Термин "хроническая головная боль напряжения" (СТН), применяемый в контексте, означает головную боль напряжения, которая удовлетворяет диагностическому критерию, определяемому the International Headache Society Classification, 2nd Edition (ICHD-2), например головную боль, которая имеет место по меньшей мере 15 дней в месяце в среднем в течение периода >3 месяцев (по меньшей мере 180 дней в году).

Термин "хроническая мигрень", которую называют также "трансформированной мигренью", применяемый в контексте, относится к определению, данному в ICHD-2, и является "головной болью типа мигрени, имеющей место 15 или более дней в месяце в течение более чем 3 месяцев в отсутствие чрезмерного использования лекарственных средств". Клинические методические рекомендации для диагноза хронической мигрени можно найти, например, в the ICHD-2 и в Oleson et al., Cephalalgia, 26 (6):742-746, 2006.

Термин "циклоалкил", применяемый в контексте, представляет собой одновалентную насыщенную или ненасыщенную неароматическую циклическую углеводородную группу, имеющую от трех до восьми атомов углерода, если не указано иначе, и примерами его являются циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, бицикло[2.2.1]гептил и т.п.

Циклоалкильные группы настоящего изобретения могут быть необязательно замещены (1) алканоилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (2) алкилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (3) алкокси, имеющим от одного до шести атомов углерода; (4) алкоксиалкилом, где алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (5) алкилсульфином, имеющим от одного до шести атомов углерода; (6) алкилсульфинилалкилом, где алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (7) алкилсульфонилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (8) алкилсульфонилалкилом, где алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (9) арилом; (10) амином; (11) аминоксилком, имеющим от одного до шести атомов углерода; (12) гетероарилом; (13) аралкилом, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (14) арилоилом; (15) азидо; (16) азидоалкилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (17) карбоксальдегидом; (18) (карбоксальдегид)алкилом, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (19) циклоалкилом, имеющим от трех до восьми атомов углерода; (20) алкциклоалкилом, у которого циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; (21) галогеном; (22) галогеналкилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (23) гетероциклилом; (24) (гетероциклил)окси; (25) (гетероциклил)оилом; (26) гидроксидом; (27) гидроксилалкилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (28) нитро; (29) нитроалкилом, имеющим от одного до шести атомов углерода; (30) N-защитной группой; (31) N-защищенным аминоксилком, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (32) оксо; (33) тиаалкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (34) тиаалкоксиалкилом, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от од-

ного до шести атомов углерода; (35) $-(\text{CH}_2)_q\text{CO}_2\text{R}^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из группы, состоящей из (а) алкила, (b) арила, (c) алкарила и (d) водорода, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (36) $-(\text{CH}_2)_q\text{CONR}^B\text{R}^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из группы, состоящей из (а) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (37) $-(\text{CH}_2)_q\text{SO}_2\text{R}^D$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^D выбран из группы, состоящей из (а) алкила, (b) арила и (c) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (38) $-(\text{CH}_2)_q\text{SO}_2\text{NR}^E\text{R}^F$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из (а) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (39) $-(\text{CH}_2)_q\text{NR}^G\text{R}^H$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (а) водорода; (b) N-защитной группы; (c) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (d) алкенила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (e) алкинила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (f) арила, (g) алкарила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (h) циклоалкила, имеющего от трех до восьми атомов углерода; и (i) алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; с условием, что две группы не связаны с атомом азота через карбонильную группу или сульфонильную группу; (40) тиолом; (41) перфторалкилом; (42) перфторалкоксо; (43) арилокси; (44) циклоалкоксо; (45) циклоалкилалкоксо и (46) арилалкоксо.

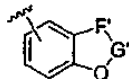
Термины "циклоалкилокси" и "циклоалкоксо", применяемые в контексте взаимозависимым образом, представляют собой циклоалкильную группу, определяемую в контексте, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через атом кислорода. Примерные незамещенные циклоалкилоксигруппы содержат от 3 до 8 атомов углерода.

Термин "эффективное количество" соединения, применяемый в контексте, является количеством, достаточным для достижения благоприятных или желательных результатов, таких как клинические результаты, и как таковое термин "эффективное количество" зависит от контекста, в котором его применяют. Например, в контексте введения агента, который является ингибитором NOS, эффективным количеством агента является, например, количество, достаточное для достижения уменьшения активности NOS по сравнению с реакцией, полученной без введения агента.

Термин "галоген", применяемый в контексте, представляет собой бром, хлор, йод или фтор.

Термин "гетероарил", применяемый в контексте, представляет собой подгруппу гетероциклов, определяемых в контексте, которые являются ароматическими, т.е. они содержат $4n+2$ π -электронов в моно- или полициклической системе.

Термины "гетероцикл" и "гетероциклил", применяемые в контексте взаимозаменяемым образом, представляют собой 5-, 6- или 7-членное кольцо, если не указано иначе, содержащее один, два, три или четыре гетероатома, независимо выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы. 5-членное кольцо имеет от нуля до двух двойных связей и 6- и 7-членные кольца имеют от нуля до трех двойных связей. Термин "гетероциклил" представляет собой также гетероциклическое соединение, имеющее мостиковую полициклическую структуру, в которой один или несколько атомов углерода и/или гетероатомов соединяют мостиком два несоседних члена моноциклического кольца, например хинуклидинильную группу. Термин "гетероцикл" включает бициклические, трициклические и тетрациклические группы, в которых любое из вышеуказанных гетероциклических колец конденсировано с одним, двумя или тремя кольцами, например арильным кольцом, циклогексановым кольцом, циклогексеновым кольцом, цикlopentanовым кольцом, цикlopентеновым кольцом и другим моноциклическим гетероциклическим кольцом, такие как индолил, хинолил, изохинолил, тетрагидрохинолил, бензофурил, бензотиенил и т.п. Примеры конденсированных гетероциклов включают тропаны и 1,2,3,5,8,8a-гексагидроиндолизин. Гетероциклы включают пирролил, пирролинил, пирролидинил, пиазолил, пиазолинил, пиазолидинил, имидазолил, имидазолинил, имидазолидинил, пиридил, пиперидинил, гомопиперидинил, пиазинил, пиперазинил, пиримидинил, пиридазинил, оксазолил, оксазолидинил, изоксазолил, изоксазолидинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиазолил, тиазолидинил, изотиазолил, изотиазолидинил, индолил, хинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазолил, фурил, тиенил, тиазолидинил, изотиазолил, изоиндазолил, триазолил, тетразолил, оксадиазолил, урицил, тиадиазолил, пиримидил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиенил, дигидротиенил, дигидроиндолил, тетрагидрохинолил, тетрагидроизохинолил, пиранил, дигидропиранил, дитиазолил, бензофуранил, бензотиенил и т.п. Гетероциклические группы включают также группы формулы



где F' выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{O}-$, и G' выбран из группы, состоящей из $-\text{C}(\text{O})-$ и $-\text{C}(\text{R}')(\text{R}'')$, где каждый из R' и R'' независимо выбран из группы, состоящей из водорода или алкила, имеющего от одного до четырех атомов углерода, и v равно числу от одного до трех, такие как 1,3-бензодиоксолил, 1,4-бензодиоксанил и т.п. Любая из указанных в контексте гетероциклических

групп может быть необязательно замещена одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из (1) алканоила, содержащего от одного до шести атомов углерода; (2) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (4) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (5) алкилсульфинила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) алкилсульфинилалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (7) алкилсульфонила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) алкилсульфонилалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (9) арила; (10) амина; (11) аминоксилалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (12) гетероарила; (13) алкарила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (14) арилоила; (15) азидо; (16) азидоалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (17) карбоксальдегида; (18) (карбоксальдегид)алкила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (19) циклоалкила, имеющего от трех до восьми атомов углерода; (20) алкциклоалкила, у которого циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода, и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; (21) галогена; (22) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (23) гетероциклила; (24) (гетероцикл)окси; (25) (гетероцикл)оила; (26) гидроксид; (27) гидроксилалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (28) нитро; (29) нитроалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (30) N-защитной группы; (31) N-защищенного аминоксилалкила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (32) оксо; (33) тиаалкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (34) тиаалкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (35) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила, (c) алкарила и (d) водорода, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (36) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (37) $-(CH_2)_qSO_2R^D$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^D выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) арила и (c) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (38) $-(CH_2)_qSO_2NR^ER^F$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) алкила, (c) арила и (d) алкарила, где алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (39) $-(CH_2)_qNR^GR^H$, где q равно целому числу от нуля до четырех и каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода; (b) N-защитной группы; (c) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (d) алкенила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (e) алкинила, имеющего от двух до шести атомов углерода; (f) арила, (g) алкарила, у которого алкиленовая группа имеет от одного до шести атомов углерода; (h) циклоалкила, имеющего от трех до восьми атомов углерода; и (i) алкциклоалкила, у которого циклоалкильная группа имеет от трех до восьми атомов углерода и алкиленовая группа имеет от одного до десяти атомов углерода; где в одном варианте осуществления две группы не связаны с атомом азота через карбонильную группу или сульфонильную группу; (40) тиола; (41) перфторалкила; (42) перфторалкокси; (43) арилокси; (44) циклоалкокси; (45) циклоалкилалкокси и (46) арилалкокси.

Термин "(гетероцикл)окси", применяемый в контексте, представляет собой гетероциклическую группу, определяемую в контексте, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через атом кислорода.

Термин "(гетероцикл)оил", применяемый в контексте, представляет собой определяемую в контексте гетероциклическую группу, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через карбонильную группу.

Термин "гидроксид", применяемый в контексте, представляет собой группу -ОН.

Термин "гидроксилалкил", применяемый в контексте, представляет собой алкильную группу, определяемую в контексте, замещенную одной-тремя гидроксигруппами, с условием, что не более чем одна гидроксигруппа может быть присоединена к одному атому углерода алкильной группы, и примерами его являются гидроксиметил, дигидроксипропил и т.п.

Термин "N-защищенная амина", применяемый в контексте, относится к аминогруппе, определяемой в контексте, к которой присоединена N-защитная группа, определяемая в контексте.

Термин "N-защитная группа", применяемый в контексте, представляет собой группы, предназначенные для защиты аминогруппы от нежелательных реакций во время синтетических процедур. Обычно применяемые N-защитные группы, описаны в публикации Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999), включенный в текст в качестве ссылки. N-защитные группы включают ацильные, ароильные или карбамильные группы, такие как формил, ацетил, пропионил, пивалоил, трет-бутилацетил, 2-хлорацетил, 2-бромацетил, трифторацетил, трихлорацетил, фталил, о-нитрофеноксиацетил, α-хлорбутирил, бензоил, 4-хлорбензоил, 4-бромбензоил, 4-нитробензоил и хиральные вспомогательные средства, такие как защищенные или незащищенные D,L-аминокислоты, такие как аланин, лейцин, фенилаланин и т.п.; сульфонильные группы, такие как бензолсульфонил, п-

толуолсульфонил и т.п.; образующие карбаматы группы, такие как бензилоксикарбонил, п-хлорбензилоксикарбонил, п-метоксибензилоксикарбонил, п-нитробензилоксикарбонил, 2-нитробензилоксикарбонил, п-бромбензилоксикарбонил, 3,4-диметоксибензилоксикарбонил, 3,5-диметоксибензилоксикарбонил, 2,4-диметоксибензилоксикарбонил, 4-метоксибензилоксикарбонил, 2-нитро-4,5-диметоксибензилоксикарбонил, 3,4,5-триметоксибензилоксикарбонил, 1-(п-бифенилил)-1-метилэтоксикарбонил, α,α -диметил-3,5-диметоксибензилоксикарбонил, бензгидрилоксикарбонил, трет-бутилоксикарбонил, диизопропилметоксикарбонил, изопропилоксикарбонил, этоксикарбонил, метоксикарбонил, аллилоксикарбонил, 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил, феноксикарбонил, 4-нитрофеноксикарбонил, флуоренил-9-метоксикарбонил, циклопентилоксикарбонил, адамантилоксикарбонил, циклогексилоксикарбонил, фенилтиокарбонил и т.п., арилалкильные группы, такие как бензил, трифенилметил, бензилоксиметил и т.п., и силильные группы, такие как триметилсилил, и т.п. Предпочтительными N-защитными группами являются формил, ацетил, бензоил, пивалоил, трет-бутилацетил, аланил, фенилсульфонил, бензил, трет-бутилоксикарбонил (Boc) и бензилоксикарбонил (Cbz).

Термин "нитро", применяемый в контексте, представляет собой группу $-\text{NO}_2$.

Термин "оксо", применяемый в контексте, представляет собой $=\text{O}$.

Термин "перфторалкил", применяемый в контексте, представляет собой алкильную группу, определяемую в контексте, в которой каждый радикал водорода, связанный с алкильной группой, заменен радикалом фтора. Примерами перфторалкильных групп являются трифторметил, пентафторэтил и т.п.

Термин "перфторалкокси", применяемый в контексте, представляет собой алкоксигруппу, определяемую в контексте, где каждый радикал водорода, связанный с алкоксигруппой, заменен фторидным радикалом.

Термин "фармацевтическая композиция", применяемый в контексте, представляет собой композицию, содержащую описанное в контексте соединение (например, любое из соединений (1)-(33) и соединений формулы (I)) в сочетании с фармацевтически приемлемым эксципиентом, и обычно изготавливаемую или продаваемую с разрешения правительственного агентства регламентирования, как часть лечебной схемы для лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции можно изготавливать, например, для перорального введения в виде дозированной лекарственной формы (например, таблетки, капсулы, мелкой капсулы, гелевого колпачка или сиропа); для местного введения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора без эмболии в виде частиц и полученного в системе растворителей, подходящей для внутривенного применения) или в виде любого другого описанного в контексте препарата.

"Фармацевтически приемлемый эксципиент", применяемый в контексте, относится к любому ингредиенту, другому, чем описываемые в контексте соединения (например, наполнителю, способному суспендировать или растворить активное соединение), и обладающему свойствами, позволяющими ему не проявлять токсичность и не вызывать воспаление у пациента. Эксципиенты могут включать, например, антиадгезивные агенты, антиоксиданты, связывающие вещества, покрытия, вспомогательные средства для прессования, дезинтегрирующие агенты, красители (красящие вещества), мягчители, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразующие средства или покрытия, корригенты, отдушки, вещества, придающие скольжение (средства, усиливающие течение), смазывающие вещества, консерванты, типографские краски, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие агенты, подслащивающие вещества или воду гидратации. Примеры эксципиентов включает, но не ограничиваются перечисленным, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), карбонат кальция, фосфат кальция (гидрофосфат кальция), стеарат кальция, кроскармеллоза, сшитый поливинилпирролидон, лимонную кислоту, кросповидон, цистеин, этилцеллюлозу, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, лактозу, стеарат магния, мальтит, маннит, метионин, метилцеллюлозу, метилпарабен, микрокристаллическую целлюлозу, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, повидон, предварительно клейстеризованный крахмал, пропилпарабен, ретинилпальмитат, шеллак, диоксид кремния, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, цитрат натрия, натриевую соль гликолята крахмала, сорбит, крахмал (кукурузный), стеариновую кислоту, сахарозу, тальк, диоксид титана, витамин А, витамин Е, витамин С и ксилит.

Применяемый в контексте термин "фармацевтически приемлемые пролекарства" представляет собой пролекарства соединений настоящего изобретения, которые находятся в пределах сферы надежной врачебной оценки, подходящей для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.п., имеют приемлемое отношение польза/риск и являются эффективными для предназначенного для них применения, а также цвиттерионные формы, когда они возможны, соединений изобретения.

Термин "фармацевтически приемлемая соль", применяемый в контексте, представляет собой соли, которые находятся в пределах сферы надежной врачебной оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.п., имеют приемлемое отношение польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 и в Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли можно получить *in situ* во время последнего выделения

и очистки соединений изобретения или отдельно реакцией свободной основной группы с подходящей органической кислотой. Репрезентативные кислотнo-аддитивные соли включают ацетат, адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорасульфoнат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, гемисульфат, гептонат, гексаноат, гидробромид, гидрохлорид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат, ундеканоат, валерат и т.п. Репрезентативные соли щелочных или щелочно-земельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния, и т.п., а также соли нетоксичных катионов аммония, четвертичного аммония и аминов, включающие, но не ограничивающиеся перечисленным, соли аммония, тетраметиламмония, тетраэтиламмония, метиламина, диметиламина, триметиламина, триэтиламина, этиламина и т.п.

Термины "фармацевтически приемлемый сольват" или "сольват", применяемые в контексте, означают соединения изобретения, у которого молекулы подходящего растворителя включены в кристаллическую решетку. Подходящий растворитель является физиологически переносимым при вводимой дозе. Например, сольваты можно получить кристаллизацией, перекристаллизацией или осаждением из раствора, который включает органические растворители, воду или их смесь. Примерами подходящих растворителей являются этанол, вода (например, для получения моно-, ди- и тригидратов), N-метилпирролидинон (NMP), диметилсульфоксид (ДМСО), N,N'-диметилформамид (ДМФА), N,N'-диметилацетамид (DMAC), 1,3-диметил-2-имидазолидинон (DMEU), 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2-(1H)пиримидинон (DMPU), ацетонитрил (ACN), пропиленгликоль, этилацетат, бензиловый спирт, 2-пирролидон, бензилбензоат и т.п. Когда растворителем является вода, сольват называют "гидратом".

Применяемый в контексте термин "Ph" означает фенил.

Применяемый в контексте термин "предотвращает" относится к профилактическому лечению или лечению, которое предотвращает появление одного или нескольких симптомов или состояний заболевания, нарушения или описанных в контексте состояний (например, острой боли, хронической боли, воспалительной боли, невропатической боли, сильной боли, боли при раковом заболевании, мигрени (с ауры или аллодинией или без них) или хронической головной боли типа напряжения. Превентивное лечение можно начинать, например, до ("профилактика перед подверганием риску") или после ("профилактика после подвергания риску") события, которое предшествует началу заболевания, нарушения или состояний (например, воздействием на фактор, вызывающий мигрень, на другую причину боли или на патоген). Превентивное лечение, которое включает введение соединения изобретения или его фармацевтической композиции, может быть экстренным, кратковременным или постоянным. Вводимые дозы могут варьировать в течение курса превентивного лечения. См. также Kaniecki et al., "Treatment of Primary Headache: Preventive Treatment of Migraine". In: Standards of Care for Headache Diagnosis and Treatment. Chicago (IL): National Headache Foundation; 2004, p. 40-52.

Термин "пролекарство", применяемый в контексте, представляет собой соединения, которые быстро превращаются *in vivo* в "родительское" соединение указанной выше формулы (например, соединения формулы (I) и соединения (1)-(33)), например, гидролизом в крови. Пролекарствами соединений изобретения могут быть общепринятые сложные эфиры. Некоторыми обычными сложными эфирами, которые применяли в качестве пролекарств, являются фениловые сложные эфиры, алифатические (C_7 - C_8 или C_8 - C_{24})-сложные эфиры, сложные эфиры холестерина, ацилоксиметилловые сложные эфиры, карбаматы и эфиры аминокислот. Например, соединение изобретения, которое содержит ОН-группу, можно ацилировать в этом положении в форме его пролекарства. Полное обсуждение их представлено в публикациях T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, and Judkins et al., Synthetic Communications 26 (23):4351-4367, 1996, каждая из которых включена в контекст в качестве ссылки. Пролекарства соединений настоящего изобретения предпочтительно являются фармацевтически приемлемыми.

Каждое из выражений "селективно ингибирует nNOS" или "селективный ингибитор nNOS" относится к веществу, которое ингибирует или связывает изоформу nNOS более эффективно, чем eNOS и/или iNOS, при измерении анализом *in vitro*, как, например, анализами, описанными в контексте. Селективное ингибирование можно выразить в терминах величины IC_{50} , величины K_i или инверсии величины процентного ингибирования, которое ниже или, наоборот, выше % ингибирования, когда вещество испытывают в анализе nNOS, чем при испытании в анализе eNOS и/или iNOS. Величина IC_{50} или K_i предпочтительно в 2 раза меньше. Более предпочтительно величина IC_{50} или K_i в 5, 10, 50 или даже более чем в 100 раз меньше.

Термин "спироцикл", применяемый в контексте, представляет собой алкиленовый дирадикал, оба конца которого связаны с одним и тем же атомом углерода "родительской" группы с образованием спироциклической группы, а также гетероалкиленовый дирадикал, оба конца которого связаны с одним и тем же атомом.

Термин "сульфонил", применяемый в контексте, представляет собой группу $-S(O)_2-$.

Термин "тиоалкарил", применяемый в контексте, представляет собой тиоалкоксигруппу, замещенную арильной группой.

Термин "тиоалкгетероцикл", применяемый в контексте, представляет собой тиоалкоксигруппу, замещенную гетероциклической группой.

Термин "тиоалокси", применяемый в контексте, представляет собой алкильную группу, присоединенную к "родительской" молекулярной группе через атом серы. Примерные незамещенные тиоалкоксигруппы содержат 1-6 атомов углерода.

Термин "тиол" представляет собой группу $-SH$.

Применяемый в контексте, а также хорошо понимаемый в данной области термин "лечение" является подходом для получения благоприятных или желательных результатов, таких как клинические результаты. Благоприятные или желательные результаты могут включать, но не ограничиваются указанным, ослабление или уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов или состояний; снижение степени заболевания, нарушения или состояния; стабилизированной (т.е. не ухудшающейся) степени заболевания, нарушения или состояния; предотвращение развития заболевания, нарушения или состояния; задержку или замедления развития заболевания, нарушения или состояния; снижение тяжести или временное облегчение заболевания, нарушения или состояния; и ремиссию (или частичную, или полную), независимо от того, поддающуюся или неподдающуюся обнаружению. "Лечение" может означать также пролонгирование продолжительности жизни по сравнению с предполагаемой продолжительностью жизни, если лечение не проводят. "Временное облегчение или ослабление" заболевания, нарушения или состояния означает, что степень и/или нежелательные клинические проявления заболевания, нарушения или состояния уменьшаются и/или время прогрессирования замедляется или удлиняется по сравнению со степенью или временем в отсутствие лечения.

Другие характерные черты и преимущества изобретения будут очевидны из нижеследующего подробного описания, чертежей и формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показан протокол испытания в отношении термической гипералгезии на модели невропатической боли Chung. Спинальный нерв L5/L6 хирургическим образом лигировали и животным предоставляли возможность для выздоровления в течение периода 7-10 дней. В течение этого периода у животных развивалась невропатическая боль. Уменьшение латентности отдергивания лапы после инфракрасного теплового стимула (пост-SNL) измеряли после периода индукции для сравнения с базовыми линиями перед хирургической операцией (BL). После введения лекарственных средств термическую гипералгезию измеряли в различных временных точках.

На фиг. 2 показан протокол испытания в отношении механической аллодинии на модели невропатической боли Chung. Спинальный нерв L5/L6 хирургическим образом лигировали и животным предоставляли возможность для выздоровления в течение периода 7-10 дней. В течение этого периода у животных развивалась невропатическая боль. Уменьшение тактильных пороговых величин (post-SNL) измеряли после периода индукции для сравнения с базовыми линиями перед хирургической операцией (BL). После введения лекарственных средств тактильную аллодинию измеряли в различных временных точках с применением калиброванных филаментов von-Frey.

На фиг. 3 показана реверсия термической гипералгезии у крыс после внутрибрюшинного введения (i.p.) соединения (8) (30 мг/кг) модели невропатической боли с лигированием L5/L6 спинального нерва (модель Chung).

На фиг. 4 показаны действия соединения (8) после i.p. введения (доза 30 мг/кг) на реверсию тактильной аллодинии у крыс после лигирования L5/L6 спинального нерва (модель Chung).

На фиг. 5 показано действие против аллодинии соединения (8) после введения (3 мг/кг, перорально (p.o.)) в дуральную воспалительную модель мигрени.

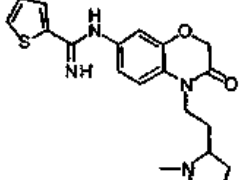
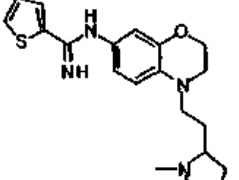
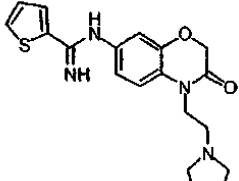
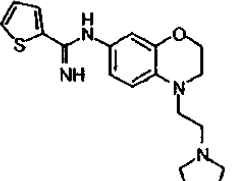
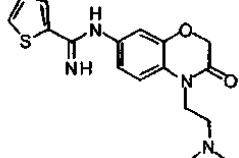
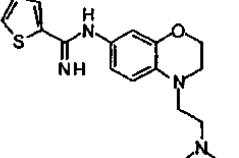
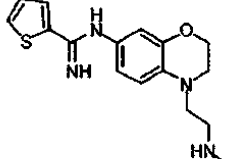
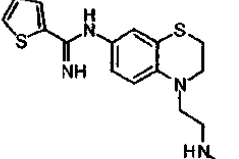
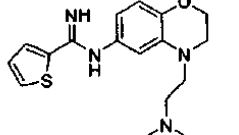
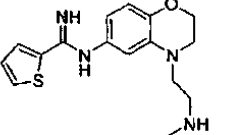
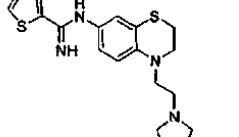
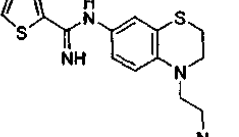
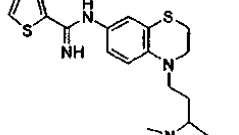
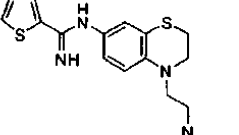
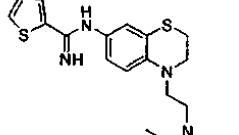
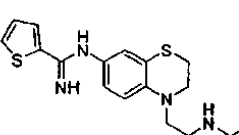
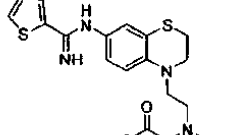
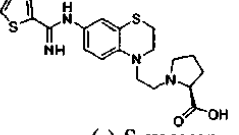
На фиг. 6 показана реверсия механической аллодинии после введения (60, 100 или 200 мг/кг, перорально) соединения (8) в каррагенановую модель воспалительной боли.

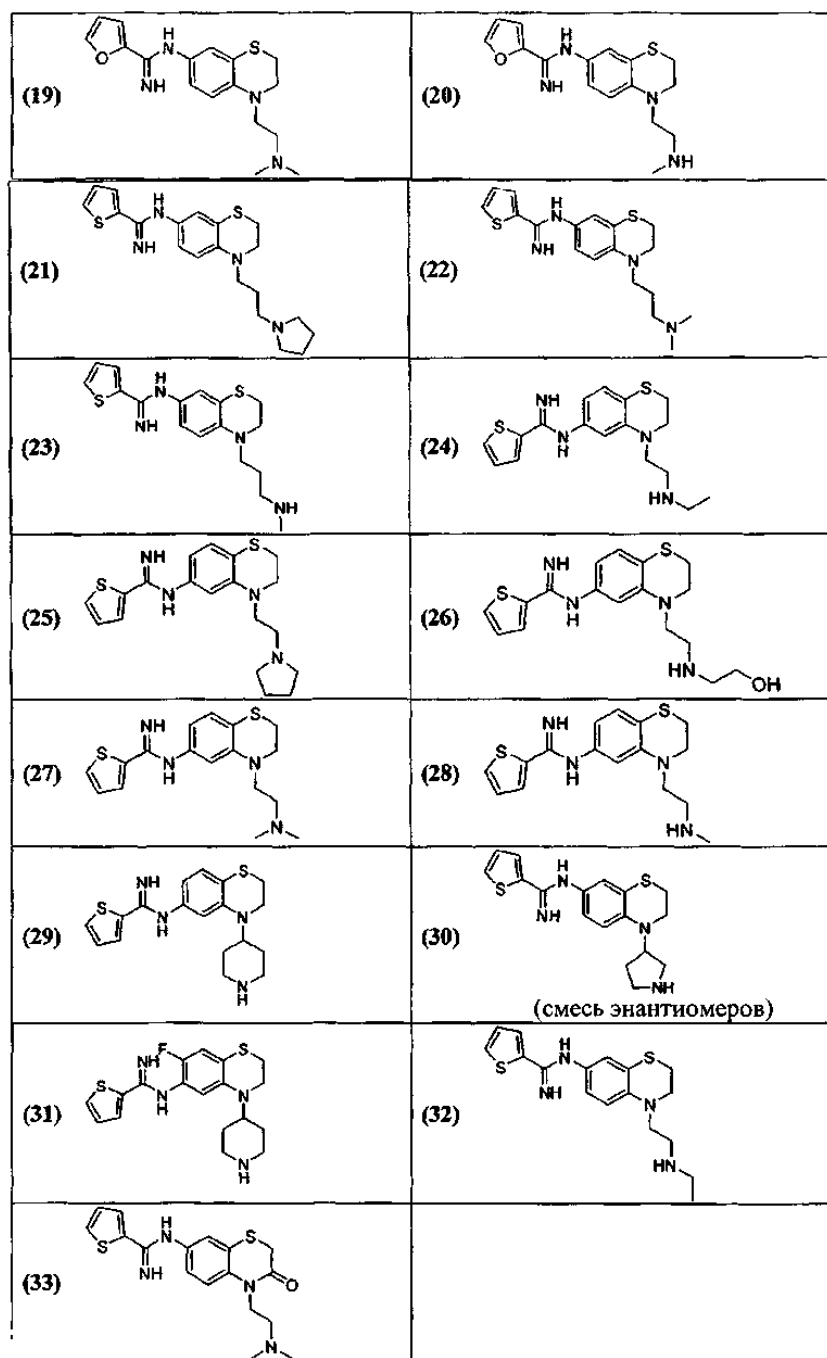
На фиг. 7 показана реверсия термической гипералгезии после введения (60, 100 или 200 мг/кг, перорально) соединения (8) в каррагенановую модель воспалительной боли.

Подробное описание

В изобретении описываются новые бензоксазины, бензотиазины и родственные соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении (оксид азота)-синтазы (NOS), содержащие их фармацевтические и диагностические композиции и их лекарственное применение. Примерные соединения изобретения показаны в табл. 1.

Таблица 1

(1)  (смесь энантимеров)	(2)  (смесь энантимеров)
(3) 	(4) 
(5) 	(6) 
(7) 	(8) 
(9) 	(10) 
(11) 	(12) 
(13)  (смесь энантимеров)	(14) 
(15) 	(16) 
(17) 	(18)  (-)-S-изомер



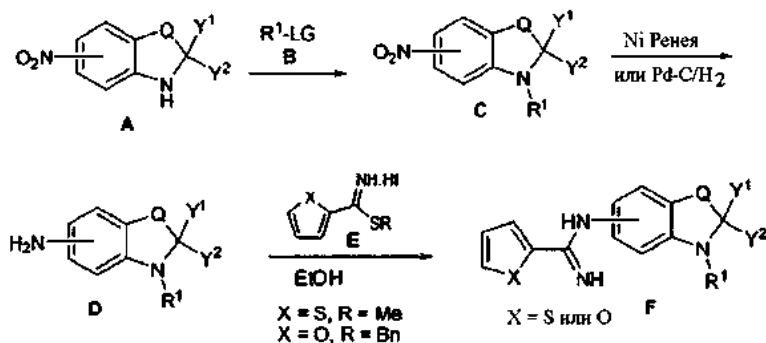
Примерные способы синтеза соединений изобретения описываются в контексте.

Способы получения соединений изобретения.

Соединения изобретения можно получать способами, аналогичными способам, разработанным в данной области, например последовательностями реакций, показанными на схемах 1-5. Система нумерации, применяемая для общих схем, не обязательно соответствует системе нумерации, применяемой в другом месте в описании или в формуле изобретения.

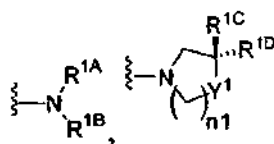
Соединение формулы С можно получить в стандартных условиях алкилирования обработкой соединения формулы А соединением формулы В или его подходящим образом защищенным производным, и "LG" представляет собой уходящую группу, такую как хлор, бром, йод или сульфат (например, метилат, тозилат или трифлат). Условия проведения алкилирования соединения формулы А соединением формулы В могут включать нагревание соединения формулы А и соединения В с растворителем или без него, предпочтительно с подходящим растворителем, таким как ДМФА, необязательно в присутствии подходящего основания, такого как карбонат калия или натрия или гидрид натрия (см. схему 1).

Схема 1

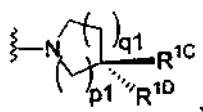


Соединение формулы D можно получить восстановлением нитрогруппы соединения формулы C или его подходящим образом защищенного производного в стандартных условиях, как показано на схеме 1. В одном примере стандартные условия восстановления включают применение никеля Реня в полярном растворителе, таком как метанол, при температурах флегмы. Или же соединение формулы D можно получить гидрированием соединения формулы C с применением подходящего катализатора (например, палладия-на-угле) в этаноле или другом растворителе или комбинациях растворителей. Как показано на схеме 1, соединение формулы F можно получить реакцией соединения формулы E с соединением формулы D согласно предыдущей методике (публикация патента США № 20060258721 A1, включенная в контекст в качестве ссылки).

Альтернативно, получение соединения формулы K, у которого R^1 представляет собой $(\text{CH}_2)_n\text{X}^1$, где X^1 представляет собой



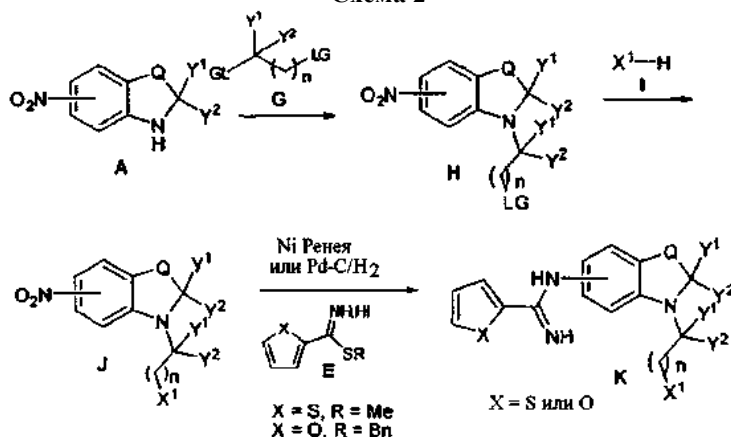
или



где R^{1A} , R^{1B} , R^{1C} , R^{1D} , Y^1 , который представляет собой CH_2 , O, S или NR^1 , $n1$, $p1$ и $q1$, имеют значения, указанные в контексте в качестве примеров,

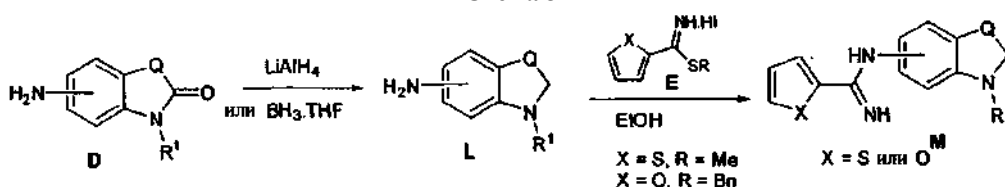
включает реакцию соединения формулы H, где LG представляет собой подходящую уходящую группу, такую как хлор, бром, йод или сульфат (например, мезилат, тозилат или трифлат), с соединениями формулы I в стандартных условиях алкилирования, как показано на схеме 2. Когда LG представляет собой альдегидную или кетонную группу, можно применять стандартные условия восстановительного аминирования (см., например, Abdel-Majid et al., J. Org. Chem. 61:3849-3862, 1996) с применением подходящего восстанавливающего агента, такого как NaBH_4 , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, NaCNBH_4 и т.п., в спиртовом растворителе, таком как этанол, с получением соединения формулы J. Восстановительное аминирование можно проводить в одной реакции или имин, являющийся результатом смешивания соединения формулы H с соединением формулы I, можно получить предварительно *in situ* с последующим восстановлением имина подходящим восстанавливающим агентом. Соединение J превращают в соединение K восстановлением нитро с последующим амидированием способом, аналогичным описываемому на схеме 1.

Схема 2



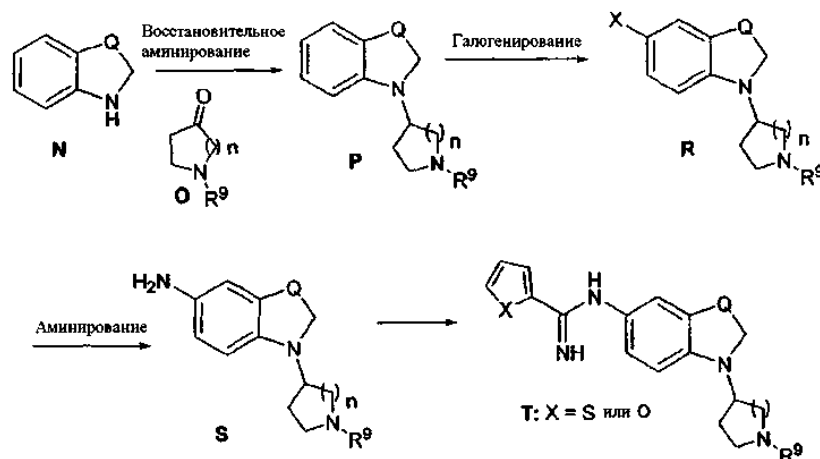
Соединения общей формулы L можно получить из соединения формулы D восстановлением амида литийалюминийгидридом в апротонных растворителях (схема 3). В альтернативном случае соединение формулы L можно восстановить с применением подходящего восстанавливающего агента, такого как BH_3 . Эти соединения затем превращают в соединение формулы M сочетанием с реагентом E, как описано на схеме 1.

Схема 3



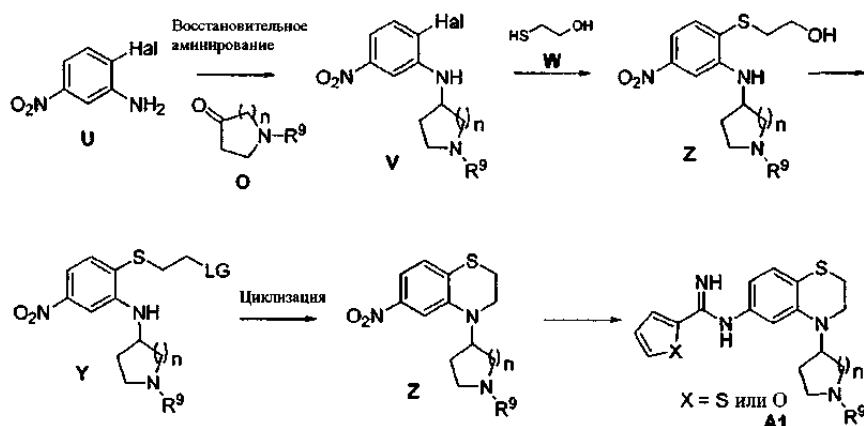
Соединения общей формулы P можно получить из соединения N и соединения общей формулы O в стандартных условиях восстановительного амидирования (схема 4; Abdel-Majid et al. J. Org. Chem. 61:3849-3862, 1996). Соединения общей формулы R можно получить галогенированием ароматического кольца соединений общей формулы P согласно разработанным методикам (см., например, de la Mare, "Electrophilic Halogenation," Cambridge University Press, Cambridge (1976)). Предпочтительные условия включают реакцию соединений общей формулы P с N-бромсукцинимидом в нейтральных условиях. Соединение формулы S можно получить катализируемым металлом аминированием соединения формулы R, где X представляет собой хлор, бром или йод (Wolfe et al. J. Org. Chem. 65:1158-1174, 2000) в присутствии подходящего аммониевого эквивалента, например имина бензофенона, $\text{LiN}(\text{SiMe}_3)_2$, Ph_3SiNH_2 , $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$ или амида лития (Huang and Buchwald, Org. Lett. 3(21):3417-3419, 2001). Предпочтительным галогеном является бром в присутствии катализатора палладия(0) или палладия(II). Примеры подходящих металлических катализаторов включают, например, палладиевый катализатор, координированный с подходящими лигандами. Подходящие лиганды для палладия можно значительно варьировать и они могут включать 4,5-бис-(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен (ксантфос), 2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил (BINAP), бис-(2-дифенилфосфинофениловый) простой эфир (DPEphos), 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен (dppf), 1,2-бис-дифенилфосфинобутан (dppb), 1,3-бис-(дифенилфосфино)пропан (dppp), (o-бифенил)-P(трет-Bu)₂, (o-бифенил)-P(Cy)₂, P(трет-Bu)₃, P(Cy)₃ и другие лиганды (см., например, Huang and Buchwald, Org. Lett. 3(21):3417-3419, 2001). Лигандом предпочтительно является P(трет-Bu)₃. Катализируемое Pd аминирование проводят в подходящем растворителе, таком как ТГФ, диоксан, толуол, ксилол, DME и т.п., температуры реакции находятся между комнатной температурой и температурой флегмы. Превращение соединения S в T проводят в условиях схемы 1.

Схема 4



Соединение формулы V, в которой hal = F, Cl, Br или I, можно получить из соединения U и соединения O (схема 5) в стандартных условиях восстановительного аминирования, как ранее описано на схеме 4. Когда hal = F или Cl, соединение формулы Z можно получить из соединения формулы V реакцией с W в основных условиях. Подходящее основание, такое как K_2CO_3 , применяют в подходящем растворителе, подобном ДМФА. В некоторых случаях для такого превращения может быть необходимо нагревание. В альтернативном случае, когда hal = Cl, Br или I, соединение Z можно получить из соединений V и W реакцией, катализируемой переходным металлом. Предпочтительные условия включают применение палладиевого катализатора, такого как $Pd(OAc)_2$ или $Pd_2(dba)_3$ с фосфиновым лигандом, таким как Josiphos или $CyPF^tBu$ (Hartwig, *Acc. Chem. Res.*, 2008, 41, 1534). Гидроксильную группу соединения Z можно превратить в LG, такой как хлор, бром, йод или сульфат (например, мезилат, тозилат или трифлат), с получением соединения общей формулы Y с применением стандартных условий. Предпочтительной уходящей группой является йод и ее можно ввести с применением трифенилфосфина и йода в подходящем растворителе, таком как ТГФ. Соединение Y можно циклизовать в соединение Z нагреванием с основанием, таким как K_2CO_3 , в подходящем растворителе, таком как ДМФА. Соединения формулы Z можно превратить в соединения изобретения A1 восстановлением нитрогруппы с последующим сочетанием амидина, как описано ранее на схеме 1.

Схема 5



В некоторых случаях химические превращения, указанные выше, могут быть модифицированы, например, применением защищенных групп, чтобы предотвратить побочные реакции вследствие реакционноспособных групп, например, присоединенных в качестве заместителей. Этого можно достичь при помощи общепринятых защитных групп, описываемых в *Protective Groups in Organic Chemistry*, McOmie, Ed., Plenum Press, 1973 and in *Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 3rd Edition, 1999.

Соединения изобретения и промежуточные продукты при получении соединений изобретения можно выделять из их реакционных смесей и очищать (если необходимо) с применением общепринятых методик, включающих экстракцию, хроматографию, дистилляцию и перекристаллизацию.

Получение требуемой соли соединения достигают с применением стандартных способов. Например, нейтральное соединение обрабатывают кислотой в подходящем растворителе и образованную соль выделяют фильтрованием, экстракцией или любым другим подходящим способом.

Получение сольватов соединений изобретения может варьировать в зависимости от соединения и сольвата. Сольваты обычно получают растворением соединения в подходящем растворителе и выделе-

нием сольвата охлаждением или добавлением антирастворителя. Сольват обычно сушат или подвергают азеотропной перегонке в условиях окружающей среды.

Получение оптического изомера соединения изобретения можно проводить реакцией подходящих оптически активных исходных веществ в условиях реакции, которые не вызовут рацемизацию. В альтернативном случае, индивидуальные энантиомеры можно выделить разделением рацемической смеси с применением стандартных методик, таких как фракционная кристаллизация или хиральная ВЭЖХ.

Соединение изобретения, меченное радиоактивным изотопом, можно получить с применением стандартных способов, известных в данной области. Например, тритий можно включить в соединение изобретения с применением стандартных методик, таких как гидрирование подходящего предшественника в соединение изобретения с применением газообразного трития и катализатора. В альтернативном случае, соединение изобретения, содержащее радиоактивный йод, можно получить из соответствующего производного триалкилолова (предпочтительно триметилолова) с применением стандартных условий йодирования, таких как иодид [^{125}I] натрия в присутствии хлорамина-Т в подходящем растворителе, таком как диметилформамид. Соединение триалкилолова можно получить из соответствующего соединения нерадиоактивного галогена, предпочтительно йода, с применением стандартных условий катализируемого палладием стanniлирования, такого как, например, гексаметилдиолово, в присутствии тетра-кис(трифенилфосфин)палладия(0) в инертном растворителе, таком как диоксан, и при повышенных температурах, предпочтительно 50-100°C.

Фармацевтические применения.

В настоящем изобретении описаны все применения соединений изобретения, включая применение в терапевтических способах, независимо от того, применяют ли их отдельно или в комбинации с другим терапевтическим веществом, их применение в композициях для ингибирования активности NOS, например nNOS, их применение в диагностических анализах и их применение в качестве средств для исследования.

Соединения изобретения обладают полезной ингибирующей NOS активностью и поэтому являются применимыми для лечения или снижения риска появления заболеваний или состояний, интенсивность симптомов которых уменьшают снижением активности NOS. Такие заболевания или состояния включают заболевания и состояния, при которых синтез или сверхсинтез оксида азота играет способствующую им роль.

Данные доказывают роль оксида азота (NO) в качестве медиатора нейротрансмиссии, синаптической пластичности и патологической боли в центральной и периферической нервных системах (Snyder, *Science* 1992, 257:494-496; Meller et al., *Pain* 52:127-136, 1993; Praset et al., *A. Prog. Neurobiol.* 64: 51-68, 2001; and Choi et al., *J. Neurol. Sci.* 138 (1-2):14-20, 1996). Многочисленные исследования на животных моделях и генетических дефицитах предполагают главную роль NO и nNOS в патофизиологии сенситизированных болей, таких как невропатическая боль (Choi et al., *J. Neurol. Sci.* 138(1-2):14-20, 1996), и ассоциированных поведенческих реакциях, таких как термическая гипералгезия (Meller et al., *Neurosci.* 50:7-10, 1992; Yamamoto et al., *Anesthesiology* 82:1266-1273, 1995) и механическая аллодиния (Hao et al. *Pain*, 66:313-319, 1996; Pan et al., *Anesthesiology* 89(6):1518-23, 1998). Например, повреждение спинно-мозгового нерва у мышей приводит к развитию механической повышенной чувствительности у мышей дикого типа, но не у мышей с дефицитом nNOS (Guan et al., *Mol Pain*, 3:29, 2007). Аналогично этому, системное или подоболочечное введение ингибиторов NOS, таких как L-NAME или 7-NI, может снизить индуцированную повреждением нерва механическую повышенную чувствительность. Эта механическая повышенная чувствительность сопровождается повышением экспрессии белка nNOS, но не eNOS или iNOS, в ипсилатеральных спинно-мозговых узлах L5 через 7 дней после повреждения нерва (Guan et al., *Mol. Pain*, 3:29, 2007). Исследования экспрессии генов показали, что NIDD, белок, регулирующий активность фермента nNOS, позитивно регулируется в спинном мозге и спинно-мозговых узлах (DRG) крысиной модели невропатической или воспалительной боли (Chen et al. *J. Mol. Histol.* 39(2):125-33, 2008). На модели Chung невропатической боли (лигирование неповрежденного нерва или SNL) ингибиторы NOS, такие как L-NAME, могут уменьшать подобные невропатической боли поведенческие реакции, такие как механическая и холодная аллодиния, продолжительная боль (Yoon et al., *NeuroReport* 9:367-372, 1998) и термическая гипералгезия (см., например, патент США № 7375219 и публикацию PCT WO 2009/062318, каждый из которых таким образом включен в качестве ссылки). Ингибиторы NOS обнаруживали эффективность при других болевых состояниях, сенситизированных компонентами центральной сенситизации, таких как индуцированная винкристином (химиотерапия) болезненная невропатия (Kamei et al. *Pain*. 117(1-2):112-20, 2005), индуцированная полным адьювантом Фрейнда (CFA) хроническая воспалительная боль (Chun et al., *Pain* 119:113-123, 2005), индуцированная каррагенаном механическая и термическая гипералгезия (Handy et al., *Neuropharmacology* 37:37-43, 1998; Osborne et al., *Br. J. Pharmacol.* 126(8):1840-1846, 1999), висцеральная гипералгезия после инстилляции зимозана внутрь толстой кишки (Coutinho et al. *Eur. J. Pharmacol.* 429:319-325, 2001) и постгерпетическая аллодиния (Sasaki et al. *Neuroscience*, 150(2):459-466, 2007).

Согласно этому в настоящем изобретении описан способ лечения, предупреждения или снижения риска появления заболевания или состояния, вызванного активностью NOS, который включает введение

эффективного количества соединения изобретения в клетку или животному, нуждающемуся в этом. Такие заболевания или состояния включают, например, головную боль типа мигрени (с аурой или без нее), хроническую головную боль типа напряжения (СТТН), мигрень с аллодинией, головную боль вследствие чрезмерного употребления лекарственных средств, кластерную головную боль; невропатическую боль, такую как связанную со СПИД болезненную невропатию, центральную боль после инсульта (CPSP), хроническую головную боль, диабетическую невропатию, невропатическую боль, индуцированную химиотерапией (например, паклитакселом, цис-платином, доксорубицином и т.д.), постгерпетическую невралгию, тригеминальную невралгию); хроническую воспалительную боль, являющуюся результатом остеоартрита, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилоартрита, псориатического артрита, недифференцированной спондилоартропатии, воспалительного артрита, висцеральную боль, нейровоспаление, индуцированную лекарственной терапией гипералгезию и/или аллодинию, например, индуцированную опиоидом гипералгезию или триптан(5-HT_{1D/1B}-агонист)-индуцированную гипералгезию/аллодинию, острую боль, хроническую боль, диабетическую боль, боль при раке костей; химические зависимости или аддикции, например, привыкание к чрезмерному употреблению лекарственного средства, привыкание к употреблению кокаина, привыкание к никотину, индуцированную метамфетамином нейротоксичность, этанольную толерантность, зависимость или абстиненция или индуцированную морфином/опиоидом толерантность, зависимость, гипералгезия или абстиненция, нарушения ЦНС, включающие, но не ограничивающиеся перечисленным, например, эпилепсию, тревогу, депрессию (как такую или в комбинации), синдром дефицита внимания и гиперактивности (ADHD), психоз или деменцию, нейродегенеративные заболевания или повреждение нерва, например острое повреждение спинного мозга, связанная со СПИД деменция, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Хантингтона, рассеянный склероз, нейротоксичность или травма головы, связанные с сердечно-сосудистым заболеванием состояния, например инсульт, связанное с CABG неврологическое нарушение, НСА-кардиогенный шок, повреждение при реперфузии или васкулярная деменция, или желудочно-кишечные нарушения, например связанная с илеостомией диарея или демпинг-синдром.

Нижеследующее описание является кратким изложением и основой для связи между ингибированием NOS (особенно nNOS или nNOS и iNOS) и некоторыми из этих состояний.

Мигрень с аурой или без ауры.

Первое наблюдение, сделанное Asciano Sobrero в 1847 году, о том, что небольшие количества нитроглицерина, агента, высвобождающего NO, вызывают тяжелую головную боль, привело к гипотезе мигрени на основе оксида азота (Olesen et al., *Cephalalgia* 15:94-100, 1995). Известно, что серотонергические 5HT_{1D/1B}-агонисты, такие как суматриптан, которые применяют клинически при лечении мигрени, предотвращают снижение кортикального распространения в лиссэнцефалическом и гирэнцефалигическом мозге во время приступа мигрени, процесса, приводящего к широко распространенному высвобождению NO. Действительно, было обнаружено, что суматриптан модифицирует искусственно повышенные уровни кортикального NO после инфузии глицерилтринитрата крысам (Read et al., *Brain Res.* 847:1-8, 1999; *ibid*, 870 (1-2):44-53, 2000). В рандомизированном двойном слепом клиническом испытании на мигрень у людей наблюдали степень реакции 67% после одного внутривенного введения гидрохлорида L-N^G-метиларгинина (L-NMMA, ингибитора NOS). Действие не относили к простому, опосредуемому eNOS сужению сосудов, поскольку не наблюдали никакого влияния на скорость в средней церебральной артерии, определяемую транскраниальным доплеровским измерителем (Lassen et al., *Lancet* 349:401-402, 1997). В недавнем адаптивном клиническом испытании, разработанном для лечения острой мигрени, введение селективного ингибитора iNOS GW274150 при дозах, составляющих от 5 до 180 мг, не отличалось от плацебо в терминах части субъектов, у которых не было боли через 2 ч после лечения. То же самое соединение, оцениваемое в клиническом испытании профилактики мигрени (120 мг ежедневно в течение 12 недель), было также неэффективным при снижении частоты приступов мигрени (Hoye et al. *Cephalalgia*, 2009, 29, 132). Однако в открытом поисковом исследовании с применением гидроксикобаламина-поглотителя NO снижение частоты приступов мигрени на 50% наблюдали у 53% пациентов и наблюдали также снижение общей продолжительности приступов мигрени (van der Kuy et al., *Cephalgia* 22(7):513-519, 2002). Результаты этих клинических испытаний предполагают, что iNOS или eNOS не играет значительную роль в индуцировании головной боли типа мигрени, а скорее указывают на nNOS в качестве ключевой изоформы при головной боли типа мигрени. Соединения изобретения (например, соединение формулы (I), такое как соединения (1)-(33)), можно также применять для профилактики мигрени.

Мигрень с аллодинией.

Клинические исследования показали, что у до 75% пациентов развивается кожная аллодиния (чрезмерная кожная чувствительность) во время приступов мигрени и что это развитие во время мигрени является вредным для противомигренового действия триптановых 5HT_{1B/1D}-агонистов (Burstein et al., *Ann. Neurol.* 47:614-624, 2000; Burstein et al., *Brain*, 123:1703-1709, 2000). Хотя раннее введение триптанов, таких как суматриптан, может прекращать мигреновую боль, позднее вмешательство суматритана не способно прекращать мигреновую боль или возвращать в прежнее состояние чрезмерную кожную чувствительность у пациентов, страдающих мигренью, уже связанных с аллодинией (Burstein et al., *Ann. Neu-*

rol. DOI: 10.1002/ana. 10785, 2003; Burstein and Jakubowski, *Ann. Neurol.*, 55:27-36, 2004). Развитие периферической и центральной чувствительности коррелирует с клиническими проявлениями мигрени. У пациентов, страдающих мигренью, пульсирующая боль имеет место через 5-20 мин после начала головной боли, тогда как кожная аллодиния начинается через 20-120 мин (Burstein et al., *Brain*, 123:1703-1709, 2000). У крыс экспериментально индуцированная периферическая чувствительность менингеальных болевых рецепторов имеет место в пределах 5-20 мин после нанесения воспалительного супа (I.S.) на твердую мозговую оболочку (Levy and Strassman, *J. Physiol.*, 538:483-493, 2002), тогда как центральная чувствительность тригеминоvascularных нейронов развивается через 20-120 мин (Burstein et al., *J. Neurophysiol.* 79:964-982, 1998) после введения I.S.

Параллельные влияния при раннем или позднем введении антимигреновых триптанов, подобных суматриптану, на развитие центральной чувствительности демонстрировали на крысах (Burstein and Jakubowski, см. выше). Так, раннее, но не позднее введение суматриптана, предотвращает длительное повышение I.S.-индуцированной спонтанной активности, наблюдаемой в центральных тригеминоvascularных нейронах (клиническая корреляция интенсивности мигреновой боли). Кроме того, позднее введение суматриптана крысам не предотвращает I.S.-индуцированную нейронную чувствительность к механической стимуляции у кожи, расположенной вокруг глазницы, а также не снижает порог тепловой чувствительности (клиническая корреляция пациентов с механической и термической аллодинией в области вокруг глазницы). В противоположность этому, раннее введение суматриптана предотвращает вызванное I.S. индуцирование как термической, так и механической гиперчувствительности. После развития центральной чувствительности позднее воздействие суматриптана реверсирует увеличение дуральных рецептивных участков и повышает чувствительность до дурального сдавливания (клиническая корреляция пульсирующей боли, усиленной изгибанием), в то время как раннее воздействие предотвращает его.

В предыдущих испытаниях на мигреновых соединениях, таких как суматриптин (Kaube et al., *Br. J. Pharmacol.* 109:788-792, 1993), золмитриптан (Goadsby et al., *Pain* 67:355-359, 1996), наратриптан (Goadsby et al., *Br. J. Pharmacol.*, 328:37-40, 1997), ризатриптан (Cumberbatch et al., *Eur. J. Pharmacol.*, 362:43-46, 1998) или L-471-604 (Cumberbatch et al., *Br. J. Pharmacol.* 126:1478-1486, 1999), исследовали их влияния на несенсибилизированные центральные тригеминоvascularные нейроны (в нормальных условиях) и поэтому эти исследования не отражали действия таких соединений при патофизиологических условиях мигрени. Хотя триптаны являются эффективными для прекращения пульсирующей боли при мигрени, независимо от того, вводили ли их рано или поздно, периферическое действие суматриптана не способно прекратить мигреновую боль с аллодинией после позднего введения посредством действий центральной сенсibilизации тригеминоvascularных нейронов. Ограничения триптанов предполагают, что улучшение в лечении мигреновой боли можно достичь применением лекарственных средств, которые могут прерывать начало центральной сенсibilизации, таких как соединения настоящего изобретения.

Было обнаружено, что системно введенный нитроглицерин повышает уровни nNOS и c-Fos-иммунореакционных нейронов (нейронная активация маркеров) в тригеминальных хвостатых ядрах у крыс спустя 4 ч, позволяя предположить, что NO вероятно опосредует центральную сенсibilизацию тригеминальных нейронов (Pardutz et al., *Neuroreport* 11(14):3071-3075, 2000). Кроме того, L-NAME может ослаблять экспрессию Fos в тригеминальных хвостатых ядрах после пролонгированной (2 ч) электрической стимуляции сагиттального синуса (Hoskin et al. *Neurosci. Lett.* 266(3):173-6, 1999). В сочетании со способностью ингибиторов NOS прерывать острый приступ мигрени (Lassen et al., *Cephalalgia* 18(1):27-32, 1998), соединения изобретения, отдельно или в комбинации с другими антиноцицептивными агентами, представляют собой превосходные кандидатуры терапевтических средств для прерывания мигрени у пациентов после развития аллодинии.

Хроническая головная боль (СТГН).

NO содействует сенсорной передаче в периферической (Aley et al., *J. Neurosci.* 1:7008-7014, 1998) и центральной нервной системе (Meller and Gebhart, *Pain* 52:127-136, 1993). Существенное экспериментальное доказательство показывает, что центральная сенсibilизация, вызванная пролонгированным ноцицептивным вводом из периферии, повышает возбудимость нейронов в ЦНС, и вызывается повышением активации NOS и синтеза NO или ассоциирована с ними (Bendtsen, *Cephalalgia* 20:486-508, 2000; Woolf and Salter, *Science* 288:1765-1769, 2000). Обнаружено, что экспериментальная инфузия донора NO, глицерилтринитрата, вызывает головную боль у пациентов. В исследовании двойным слепым методом пациенты с хронической головной болью типа напряжения, получающие L-NMMA (ингибитор NOS), имели значительное снижение в интенсивности головной боли (Ashina and Bendtsen, *J. Headache Pain* 2:21-24, 2001; Ashina et al., *Lancet* 243 (9149):287-9, 1999). Таким образом, ингибиторы NOS настоящего изобретения могут быть применимыми для лечения хронической головной боли типа напряжения.

Острое повреждение спинного мозга и хроническая или невропатическая боль.

У людей NO вызывает боль при внутрикожной инъекции (Holthusen and Arndt, *Neurosci. Lett.* 165:71-74, 1994), тем самым показывая непосредственное участие NO в боли. Кроме того, ингибиторы NOS оказывают слабое влияние или не оказывают влияние на ноцицептивный перенос при нормальных состояниях (Meller and Gebhart, *Pain* 52:127-136, 1993). NO принимает участие в переносе и модуляции ноцицептивной информации на уровне периферии, спинного мозга и на надостном уровне (Duarte et al.,

Eur. J. Pharmacol. 217:225-227, 1992; Haley et al., Neuroscience 31:251-258, 1992). Повреждения или дисфункции в ЦНС могут привести к развитию симптомов хронической боли, известной как центральная боль, и включают спонтанную боль, гипералгезию и механическую и холодную аллодинию (Pagni, Textbook of Pain, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1989, pp. 634-655; Tasker In: The Management of Pain, pp. 264-283, J.J. Bonica (Ed.), Lea and Febiger, Philadelphia, PA, 1990; Casey, Pain and Central Nervous System Disease: The Central Pain Syndromes, pp. 1-11 K.L. Casey (Ed.), Raven Press, New York, 1991). Было показано, что системное введение (внутрибрюшинное) ингибиторов NOS 7-NI и L-NAME ослабляет хронические, подобные аллодинии симптомы у крыс с повреждением спинного мозга (Hao and Xu, Pain 66:313-319, 1996). Действия 7-NI не были связаны со значительным седативным действием и были реверсированы L-аргинином (предшественник NO). Считается, что сохранение термической гипералгезии опосредуется оксидом азота в поясничном спинном мозге L-NAME и может быть заблокировано подоболочечным введением ингибитора (оксид азота)-синтазы, подобного L-NAME или растворимого ингибитора гуанилатциклазы метиленового синего (Neuroscience 50(1):7-10, 1992).

Невропатическая боль может быть обусловлена первичным инсультом периферической (например, тройничная невралгия) или центральной нервной системы (например, таламическая боль). Вероятно, однако, что патофизиология, приводящая к состоянию невропатической боли, начинающемуся от распространения периферического повреждения на протяжении времени к другим участкам, чтобы поразить сильнее другие нейроны в спинно-мозговых узлах или изменить происходящее ингибирование передачи спинно-мозговой боли центрами головного мозга, такими как периакведуктальное серое вещество в мозге, locus coeruleus (Zimmermann, Eur. J. Pharmacol. 429:23-27, 2001) или изменить нисходящие облегчающие пути в ростровентромедиальном мозговом веществе (RVM) (Bee and Dickenson, Pain, 140(1):209-23, 2008).

Таким образом, ингибиторы NOS настоящего изобретения могут быть применимы для лечения хронической или невропатической боли.

Диабетическая невропатия.

Эндогенный полиаминовый метаболит агматин является метаболитом аргинина, который является как ингибитором NOS, так и антагонистом канала N-метил-D-аспартата (NMDA). Агматин является эффективным как в модели невропатической боли, созданной лигатурованием спинно-мозгового нерва, так и стрептозотоциновой модели диабетической невропатии (Karadag et al., Neurosci. Lett. 339 (1):88-90, 2003). Таким образом, соединения, обладающие ингибирующей NOS активностью, такие как, например, соединение формулы I, комбинация ингибитора NOS и антагониста NMDA должны быть эффективными при лечении диабетической невропатии и других состояний невропатической боли.

Воспалительные заболевания и нейровоспаление.

LPS, хорошо известное фармакологическое средство, индуцирует воспаление во многих тканях и активирует NFκB во всех областях головного мозга при введении внутривенно. Он активирует также провоспалительные гены при инъекции локально в полосатое тело (Stern et al., J. Neuroimmunology, 109:245-260, 2000). Недавно было обнаружено, что как антагонист рецептора NMDA MK801, так и селективный для головного мозга ингибитор nNOS 7-NI снижают активацию NFκB в головном мозге и таким образом показывают явную роль пути глутамата и NO при нейровоспалении (Glezer et al., Neuropharmacology 45(8):1120-1129, 2003). Таким образом, введение соединения изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с антагонистом NMDA, должно быть эффективным при лечении заболеваний, являющихся результатом нейровоспаления.

Инсульт и повреждение при реперфузии.

Роль NO в церебральной ишемии может быть защитной или деструктивной в зависимости от стадии развития ишемического процесса и от клеточного компартмента, продуцирующего NO (Dalkara et al., Brain Pathology 4:49, 1994). Хотя NO, продуцируемый eNOS, является вероятно благоприятным посредством действия в качестве вазодилатора для повышения кровотока к пораженному участку (Huang et al., J. Cereb. Blood Flow Metab. 16:981, 1996), NO, продуцируемый nNOS, содействует первоначальному метаболическому повреждению ишемической полутени, приводящему к более значительным инфарктам (Hara et al., J. Cereb. Blood Flow Metab. 16:605, 1996). Метаболическое нарушение, которое имеет место во время ишемии и последующей реперфузии, приводит к экспрессии и высвобождению некоторого количества цитокинов, которые активируют iNOS в нескольких типах клеток, в том числе некоторых типах клеток центральной нервной системы. NO может продуцироваться при цитотоксических уровнях посредством iNOS, и повышенные уровни iNOS содействуют прогрессирующему повреждению ткани в ишемической полутени, приводящему к более значительным инфарктам (Parmentier et al., Br. J. Pharmacol. 127:546, 1999). Обнаружено, что ингибирование iNOS, ослабляет церебральное ишемическое повреждение у крыс (Am. J. Physiol. 268:R286, 1995).

Показано, что синергическое нейрозащитное действие наблюдается при комбинированном введении антагониста NMDA (например, MK-801 или LY-293558) с селективными ингибиторами nNOS (7-NI или ARL17477) при глобальной церебральной ишемии (Hicks et al., Eur. J. Pharmacol. 381:113-119, 1999). Таким образом, соединения изобретения, введенные либо отдельно, либо в комбинации с антагонистами

NMDA, или соединениями, обладающими смешанной активностью nNOS/NMDA, могут быть эффективными при лечении состояний инсульта и других нейродегенеративных нарушений.

Осложнения, являющиеся результатом операции обходного шунтирования коронарной артерии.

Церебральное повреждение и когнитивная дисфункция до сих пор остаются основными осложнениями у пациентов, подвергаемых операции обходного шунтирования коронарной артерии (CABG) (Roch et al., N. Eng. J. Med. 335:1857-1864, 1996; Shaw et al., Q. J. Med. 58:59-68, 1986). Эта церебральная недостаточность после хирургической операции является результатом ишемии из-за предоперационного церебрального микроэмболизма. В рандомизированном исследовании антагониста NMDA ремацемид пациенты обнаруживали значительное общее послеоперационное улучшение в способности к обучаемости помимо уменьшенных недостатков (Arrowsmith et al., Stroke 29:2357-2362, 1998). При условии участия эксайтотоксичности, вызванной избыточным высвобождением глутамата и притоком кальция, предполагается, что нейрозащитный агент, такой как соединение изобретения или антагонист NMDA, либо отдельно, либо в комбинации (как обсуждалось выше), может обладать благоприятным действием, улучшающим неврологические последствия после CABG.

Связанная со СПИД деменция.

Инфекция ВИЧ-1 может вызвать деменцию. Белок оболочки gp-120 ВИЧ-1 убивает нейроны в первичных кортикальных культурах при низких пикомолярных уровнях и требует наружный глутамат и кальций (Dawson et al., 90 (8):3256-3259, 1993). Эту токсичность можно ослабить введением нейрозащитного агента, например соединения изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, таким как, например, антагонист NMDA (обсуждаемый выше).

Примеры других соединений, например антагонистов NMDA, применимых для любой из комбинаций изобретения, включают аптиганел; безонпродил; будипин; конантокин G; делюцеин; дексанабинол; фелбамат; флуорофелбамат; гациклидин; глицин; ипенексозон; кайтоцефалин; ланицеин; ликостинел; мидафотел; милнаципран; нерамексан; орфенадрин; ремацемид; топирамат;

(α R)- α -амино-5-хлор-1-(фосфонометил)-1H-бензимидазол-2-пропановую кислоту;

1-аминоциклопентанкарбоновую кислоту;

[5-(аминометил)-2-[[[(5S)-9-хлор-2,3,6,7-тетрагидро-2,3-диоксо-1H,5H-пиридо[1,2,3-de]хиноксалин-5-ил]ацетил]амино]фенокси]уксусную кислоту;

α -амино-2-(2-фосфоноэтил)циклогексанпропановую кислоту;

α -амино-4-(фосфонометил)бензолуксусную кислоту;

(3E)-2-амино-4-(фосфонометил)-3-гептеновую кислоту;

3-[(1E)-2-карбоксо-2-фенилэтирил]-4,6-дихлор-1H-индол-2-карбоновую кислоту;

соль 5-оксида 8-хлор-2,3-дигидропиридазино[4,5-b]хинолин-1,4-диона с 2-гидрокси-N,N,N-триметилэтанаминием;

N'-[2-хлор-5-(метилтио)фенил]-N-метил-N-[3-(метилтио)фенил]гуанидин;

N'-[2-хлор-5-(метилтио)фенил]-N-метил-N-[3-[(R)-метилсульфинил]фенил]гуанидин;

6-хлор-2,3,4,9-тетрагидро-9-метил-2,3-диоксо-1H-индено[1,2-b]пирозин-9-уксусную кислоту;

7-хлортиокинуреновую кислоту;

(3S,4aR,6S,8aR)декагидро-6-(фосфонометил)-3-изохинолинкарбоновую кислоту;

(-)-6,7-дихлор-1,4-дигидро-5-[3-(метоксиметил)-5-(3-пиридирил)-4H-1,2,4-триазол-4-ил]-2,3-хиноксалиндион;

4,6-дихлор-3-[(E)-(2-охо-1-фенил-3-пирролидинилиден)метил]-1H-индол-2-карбоновую кислоту;

(2R,4S)-rel-5,7-дихлор-1,2,3,4-тетрагидро-4-[[[(фениламино)карбонил]амино]-2-хинолинкарбоновую кислоту;

(3R,4S)-rel-3,4-дигидро-3-[4-гидрокси-4-(фенилметил)-1-пиперидинил]-2H-1-бензопиран-4,7-диол;

2-[(2,3-дигидро-1H-инден-2-ил)амино]ацетамид;

1,4-дигидро-6-метил-5-[(метиламино)метил]-7-нитро-2,3-хиноксалиндион;

[2-(8,9-диоксо-2,6-диазабицикло[5.2.0]нон-1(7)-ен-2-ил)этил]фосфоновую кислоту;

(2R,6S)-1,2,3,4,5,6-гексагидро-3-[(2S)-2-метоксипропил]-6,11,11-триметил-2,6-метано-3-бензазоцин-9-ол;

2-гидрокси-5-[[[пентафторфенил]метил]амино]бензойную кислоту;

1-[2-(4-гидроксифенокси)этил]-4-[(4-метилфенил)метил]-4-пиперидинол;

1-[4-(1H-имидазол-4-ил)-3-бутирил]-4-(фенилметил)пиперидин;

2-метил-6-(фенилэтирил)пиридин;

3-(фосфонометил)-L-фенилаланин и

3,6,7-тетрагидро-2,3-диоксо-N-фенил-1H,5H-пиридо[1,2,3-de]хиноксалин-5-ацетамид или соединения, описанные в патентах США № 6071966; 6034134 и 5061703.

Кардиогенный шок.

Кардиогенный шок (CS) является основной причиной смерти пациентов с острым инфарктом миокарда, который соответствует высоким уровням NO и воспалительных цитокинов. Высокие уровни NO и пероксинитрита обладают многими действиями, включающими непосредственное ингибирование спо-

способности миокарда сокращаться, подавление окислительного фосфорилирования в митохондриях миокарда, изменение в метаболизме глюкозы, снижение восприимчивости к катехоламину и индуцирование системной вазодилатации (Hochman, *Circulation* 107:2998, 2003). При клиническом испытании с участием 11 пациентов с персистентным шоком введение ингибитора NOS L-NMMA привело к повышению в общем количестве мочи и кровяного давления и коэффициенту выживаемости 72% вплоть до 30 дней (Cotter et al., *Circulation* 101:1258-1361, 2000). При рандомизированном изучении 30 пациентов показано, что L-NAMT снижал смертность пациентов от 67 до 27% (Cotter et al., *Eur. Heart. J.* 24(14):1287-95, 2003). Аналогично этому, введение соединения изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, может быть применимо для лечения кардиогенного шока.

Страх и депрессия.

Последние исследования крыс и мышей в тесте на принудительное плавание (FST) показали, что ингибиторы NOS обладают антидепрессантной активностью у мышей (Harkin et al. *Eur. J. Pharm.* 372:207-213, 1999) и что их действие опосредуется серотонин-зависимым механизмом (Harkin et al., *Neuropharmacology* 44 (5):616-623, 1993). 7-NI демонстрирует анксиолитическую активность в тесте для крыс с лабиринтом (Yildiz et al., *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 65:199-202, 2000), тогда как селективный ингибитор nNOS TRIM является эффективным в тесте, проводимом в компартменте со сменой свет-темнота, на модели FST депрессии и страха (Volke et al., *Behavioral Brain Research* 140(1-2):141-7, 2003). Введение соединения изобретения пораженному индивидууму, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, таким как, например, антидепрессант, может быть применимым для лечения страха или депрессии.

Синдром дефицита внимания и гиперактивности.

Неселективное внимание (NSA) к влиянию окружающей среды у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) и слабой возбудимостью Naples (NHE) применяли в качестве животной модели синдрома дефицита внимания и гиперактивности (ADHD) (Aspide et al., *Behav. Brain Res.* 95(1):23-33, 1998). Эти генетически измененные животные обнаруживают повышенное число эпизодов подъема на задние лапы, которые имели более короткую продолжительность, чем наблюдаемую у нормальных животных. Одна инъекция L-NAME при 10 мг/кг вызывала повышение продолжительности подъема на задние лапы. Аналогично этому, при применении более нейронно селективного 7-NINA наблюдали увеличение в продолжительности подъема на задние лапы после быстрого введения (внутрибрюшинного), тогда как введение одной дозы с медленным высвобождением или дозы с медленным многократным высвобождением (введение подкожно в ДМСО) приводило к противоположному эффекту. Таким образом, введение соединения изобретения может быть применимо для лечения ADHD.

Психоз.

Фенилциклидин (PCP) является неконкурентным блокатором каналов NMDA, который индуцирует поведенческие побочные действия у человека и млекопитающих, соответствующие поведенческим действиям у пациентов с психозом. На двух животных моделях психоза селективный ингибитор nNOS AR-R17477 противодействовал PCP-индуцированной гиперлокомоции и PCP-индуцированному дефициту в ингибировании предварительного импульса акустической реакции-испуга (Johansson et al., *Pharmacol. Toxicol.* 84 (5):226-33, 1999). Эти результаты предполагают участие nNOS в психозе. Следовательно, введение соединения изобретения пораженному индивидууму может быть применимым для лечения такого или родственных заболеваний или нарушений.

Травма головы.

Механизм неврологического повреждения у пациентов с травмой головы соответствует механизму инсульта и связан с эксайтотоксичным притоком кальция вследствие избыточного высвобождения глутамата, окислительным стрессом и продуцированием свободных радикалов из-за митохондриальной дисфункции и воспаления (*Drug & Market Development* 9(3):60-63, 1998). Животные, обработанные ингибиторами (оксид азота)-синтазы (NOS), такими как 7-NI и 3-бром-7-нитроиндазол, показали улучшение в неврологических дефицитах после экспериментального травматического повреждения головного мозга (TBI) (Mesenge et al., *J. Neurotrauma* 13:209-14, 1996). Введение соединения изобретения пораженному индивидууму может быть также применимо для лечения неврологического нарушения при травматических повреждениях головы.

Гипотермическая остановка сердца.

Гипотермическая остановка сердца (HCA) является способом, применяемым для защиты от ишемического повреждения во время хирургической операции на сердце, когда головной мозг восприимчив к нарушению во время периода прерывания циркуляции крови. В качестве вспомогательных средств во время HCA применяли различные нейрозащитные средства, и прогнозируется, что снижение продуцирования оксида азота во время HCA приводит к улучшениям в неврологической функции. Это основано на предыдущих исследованиях, которые показали, что эксайтотоксичность глутамата играет роль в HCA-индуцированном неврологическом повреждении (Redmond et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 107:776-87, 1994; Redmond et al., *Ann. Thorac. Surg.* 59:579-84, 1995) и что NO опосредует эксайтотоксичность глутамата (Dawson and Snyder, *J. Neurosci.* 14:5147-59, 1994). При исследовании 32 собак, подвергавшихся в течение 2 ч HCA при 18°C было показано, что ингибитор нейронного NOS уменьшает продуцирование

церебрального NO, значительно уменьшает некроз нейронов и приводит к превосходящей неврологической функции относительно контролей (Tseng et al., *Ann. Thorac. Surg.* 67:65-71, 1999). Введение соединения изобретения может также быть применимым для защиты пациентов от ишемического повреждения во время хирургической операции на сердце.

Нейротоксичность и нейродегенеративные заболевания.

По-видимому, митохондриальная дисфункция, эксайтотоксичность глутамата и вызванное свободными радикалами окислительное повреждение лежат в основе патогенеза многих нейродегенеративных заболеваний, включающих боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Паркинсона (PD), болезнь Альцгеймера (AD) и болезнь Хантингтона (HD) (Schulz et al., *Mol. Cell. Biochem.* 174 (1-2):193-197, 1997; Beal, *Ann. Neurol.* 38:357-366, 1995), и NO является основным медиатором в этих механизмах. Например, Dawson et al. в *PNAS* 88 (14):6368-6371, 1991, было показано, что ингибиторы NOS, подобные 7-NI и L-NAME предотвращают нейротоксичность, вызванную N-метил-D-аспартатом и родственными возбуждающими аминокислотами.

(a) Болезнь Паркинсона.

Исследования показали также, что NO играет важную роль в нейротоксичности 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (MPTP), обычно применяемого в животной модели болезни Паркинсона (Matthews et al., *Neurobiology of Disease* 4:114-121, 1997). MPTP превращается в MPP^+ посредством MAO-B и быстро поглощается допаминовым переносчиком в митохондрии содержащих допамин нейронов с последующей активацией nNOS, приводящей к гибели нейронов. Мутантные мыши, лишённые гена nNOS, но не гена eNOS, имели меньшие повреждения в черном веществе (головного мозга) после инъекции MPP^+ в полосатое тело. В исследованиях на приматах 7-NI вызывал сильное нейрозащитное действие и действие против паркинсонизма после воздействия MPTP (Hantraye et al., *Nature Med.* 2:1017-1021, 1996), как и неспецифический ингибитор L-NAME (T.S. Smith et al. *Neuroreport* 1994, 5, 2598-2600). Эти результаты предполагают, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединение изобретения, может быть благоприятным при лечении болезни Паркинсона.

(b) Болезнь Альцгеймера (AD).

Патология AD связана с β -амилоидными бляшками, пропитанными активированными микроглиями и астроцитами. Когда культивированные крысиные микроглии подвергали воздействию амилоида, имело место заметное высвобождение микроглиями оксида азота, особенно в присутствии гамма-интерферона (Goodwin et al., *Brain Research* 692(1-2):207-14, 1995). В кортикальных нейронных культурах обработка ингибиторами (оксид азота)-синтазы обеспечивает нейрозащиту от токсичности, вызванной бета-амилоидом человека (Resink et al., *Neurosci. Abstr.* 21:1010, 1995). В соответствии с глутаматной гипотезой эксайтотоксичности при нейродегенеративных заболеваниях, слабый антагонист NMDA амантадин повышает ожидаемый срок жизни PD-пациентов (Uitti et al., *Neurology* 46(6):1551-6, 1996). В предварительном контролируемом плацебо исследовании пациентов с васкулярной деменцией или деменцией типа Альцгеймера антагонист NMDA мемантин был связан с наблюдением улучшенного клинического всестороннего изменения и улучшенных показателей оценочной шкалы поведения для балльной оценки гериатрических пациентов (Winblad and Poritis, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 14:135-46, 1999). Эти результаты предполагают, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединения изобретения, может быть благоприятным при лечении AD.

(c) Боковой амиотрофический склероз.

Боковой амиотрофический склероз (ALS) является летальным нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся селективной моторной нейронной гибелью. Совокупное доказательство подтверждает, что патогенезом ALS является недостаточное выведение глутамата посредством глутаматного переносчика и специфическое распределение Ca^{2+} -проницаемых рецепторов AMPA в моторных спинномозговых нейронах, указывает на индуцированную глутаматом нейротоксичность. В спинном мозге (Sasaki et al., *Acta Neuropathol. (Berl)* 101 (4):351-7, 2001) и глиальных клетках (Anneser et al., *Exp. Neurol.* 171 (2):418-21, 2001) пациентов с ALS обнаружена повышенная иммунореактивность nNOS, что позволяет считать NO важным фактором в патогенезе ALS. Эти результаты предполагают, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединения изобретения, может быть благоприятным при лечении ALS.

(d) Болезнь Хантингтона.

Патогенез болезни Хантингтона (HD), вызываемой мутацией в белке Htt, связан с эксайтотоксичностью, окислительным стрессом и апоптозом, причем во всех этих процессах избыточный NO играет явную роль (Peterson et al., *Exp. Neurol.* 157:1-18, 1999). Окислительное повреждение является одним из основных следствий дефектов в метаболизме энергии и присутствует в моделях HD после инъекции эксайтотоксинов и митохондриальных ингибиторов (A. Petersen et al., *Exp. Neurol.* 157:1-18, 1999). Эта митохондриальная дисфункция связана с селективной и прогрессирующей нейронной потерей при HD (Brown et al., *Ann. Neurol.* 41:646-653, 1997). NO может непосредственно ослаблять комплекс IV митохондриальной респираторной цепи (Calabrese et al., *Neurochem. Res.* 25:1215-41, 2000). Стриарные средние, покрытые шипами нейроны, по-видимому, являются основной мишенью для индуцирования моторной дисфункции при HD.

Гиперфосфорилирование и активация рецепторов NMDA на этих нейронах, вероятно, принимает участие в индуцировании моторной дисфункции. Клинически было показано, что антагонист NMDA амантадин улучшает хореподобные дискинезии при HD (Verhagen Metman et al., *Neurology* 59:694-699, 2002). При условии роли nNOS в опосредуемой NMDA нейротоксичности, предполагается, что ингибиторы nNOS, особенно смешанные ингибиторы nNOS/NMDA или комбинаций лекарственных средств с активностью nNOS и NMDA, могут быть также применимыми при ослаблении действий и/или прогрессирования HD. Например предварительная обработка крыс 7-нитроиндазолом ослабляет стриарные повреждения, вызванные стереотаксическими инъекциями малоната, повреждение, которое приводит к состоянию, напоминающему болезнь Хантингтона (Hobbs et al., *Ann. Rev. Pharm. Tox.* 39:191-220, 1999). На модели HD трансгенной мыши R6/1, экспрессирующей мутированный htt экзон 1 человека, повтор 116 CAG, мыши при 11, 19 и 35 неделях обнаруживали прогрессирующее повышение в перекисном окислении липидов с нормальными уровнями супероксиддисмутазы (SOD) при 11 неделях, аналогично мышам дикого типа (WT); максимальный уровень при 19 неделях, выше уровня, наблюдаемого у мышей WT, и соответствующего ранней фазе прогрессирования заболевания и, наконец, понижающиеся уровни при 35 неделях, ниже уровней, наблюдаемых у мышей WT (Perez-Sevriano et al., *Brain Res.* 951:36-42, 2002). Повышение активности SOD приписывается компенсирующему нейрозащитному механизму с пониженными уровнями у мышей с 35 неделях, соответствующими ослабленному защитному механизму. Сопутствующие уровням SOD уровни кальцийзависимого NOS были одинаковыми для 11-недельных мышей обоих типов, WT и R6/1, но значительно повышенными у 19-недельных мышей и пониженными у 35-недельных относительно контрольных мышей WT. Уровни экспрессии nNOS также резко повышались относительно контролей у 19-недельных, но значительно понижались относительно контролей с 35 неделями. Никакие значительные изменения не наблюдали в уровнях экспрессии eNOS, белок iNOS также не могли детектировать во время развития заболевания. Прогрессирующее фенотипическое выражение заболевания, измеряемое по потере массы тела, поведению при сжимании ступней и горизонтальному и вертикальному движению, соответствует изменениям в активности NOS и экспрессии nNOS. Наконец, действия введения L-NAME как трансгенным HD-мышам R6/2, так и мышам WT, показало повышенные уровни поведения при сжимании при дозе 10 мг/кг, сходные с контролями, которые ухудшались при более высокой дозе 500 мг/кг (Deckel et al., *Brain Res.* 919 (1):70-81, 2001). Улучшение в повышении массы у мышей HD было также значительным при дозе 10 мг/кг, но уменьшалось относительно контролей при высоких уровнях доз L-NAME. Эти результаты демонстрируют, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединения изобретения, может быть благоприятным при лечении HD.

(e) Рассеянный склероз (MS).

MS является воспалительным демиелинирующим заболеванием ЦНС, в котором принимают участие цитокины и другие воспалительные медиаторы. Во многих исследованиях предполагается, что NO и его реакционноспособное производное пероксинитрит принимают участие в патогенезе MS (Acar et al. *J. Neurol.* 250 (5):588-92, 2003; Calabrese et al., *Neurochem. Res.* 28(9):1321-8, 2003). При экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (EAE), модель MS, уровни nNOS значительно повышаются в спинном мозге крыс EAE, и обработка их 7-нитроиндазолом приводит к значительной задержке начала паралича при EAE (Shin, *J. Vet. Sci.* 2(3):195-9, 2001). Эти результаты предполагают, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединения изобретения, может быть благоприятным при лечении MS.

(f) Нейротоксичность, индуцированная метамфетамином.

Метамфетамин является нейротоксичным из-за деструкции нервных окончаний допамином *in vivo*. Обнаружено, что индуцированную метамфетамином нейротоксичность можно ослабить лечением ингибиторами NOS *in vitro* (Sheng et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 801:174-186, 1996) и *in vitro* на животных моделях (Itzhak et al., *Neuroreport* 11 (13):2943-6, 2000). Аналогично этому, селективный ингибитор nNOS AR-17477AR при дозе 5 мг/кг, введенной мышам подкожно, способен предотвратить индуцированную метамфетамином потерю нейрофиламентного белка NF68 в головном мозге мышей и предотвратить потерю стриального допамина и гомованилиновой кислоты (HVA) (Sanchez et al., *J. Neurochem.* 85(2):515-524, 2003). Эти результаты предполагают, что введение подходящей дозы ингибитора NOS, такого как, например, соединения изобретения, может быть благоприятным при лечении индуцированной метамфетамином нейротоксичности.

Введение соединения изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, таким как, например, антагонист NMDA, может быть благоприятным для предупреждения или лечения любого из описанных в контексте нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, соединения изобретения можно испытывать в стандартных анализах, применяемых для определения нейрозащиты (см., например, *Am. J. Physiol.* 268:R286, 1995).

Химические зависимости и привыкания к чрезмерному употреблению лекарственных средств (например, зависимости от лекарственных средств, алкоголя и никотина).

Ключевой стадией в процессе индуцированного лекарственным средством привыкания и зависимости является регуляция высвобождения допамина из мезолимбических допаминергических нейронов. Постоянное применение кокаина изменяет экспрессию ключевого белка, регулирующего синаптический

уровень дофамина -допаминового переносчика (DAT).

(а) Привыкание к кокаину.

Исследования показали, что животные достоверно сами принимают стимуляторы внутривенно без контроля врача и что допамин является критическим в их усиливающих действиях. Недавно было обнаружено, что содержащие NO нейроны сококализуются с допamiном в областях полосатого тела и вентральном участке покрывки среднего мозга и что NO может модулировать индуцированное стимулятором высвобождение дофамина (DA). Введение антагонистов рецептора дофамина D1 снижает уровни окрашивания стриарной NADPH-диафоразы, маркера для активности NOS, тогда как антагонисты D2 вызывают противоположное действие. L-аргинин, субстрат для NOS, также является сильнодействующим модулятором высвобождения DA. Кроме того, многочисленные NO-генерирующие агенты увеличивают отток DA или ингибируют повторное поглощение как *in vitro*, так и *in vivo*. Обнаружено, что L-NAME значительно изменяет усиление действия кокаина посредством уменьшения количества самопринимаемого кокаина и увеличения времени реакции между последовательными инъекциями кокаина (Pudlak and Bozarth, Soc. Neurosci. Abs. 22:703, 1996). Это указывает на то, что ингибирование NOS соединениями изобретения может быть благоприятным при лечении кокаиновой наркомании.

(b) Индуцированные морфином/опиоидом симптомы привыкания и отмены.

Имеется много доказательств, подтверждающих роль путей как NMDA, так и NO в опиоидной зависимости у взрослых и инфантильных животных. У взрослых или новорожденных грызунов, которым инъецировали сульфат морфина, развивается поведенческий синдром отмены после преципитации налтрексоном. Симптомы отмены после стимуляции налтрексоном можно уменьшить введением ингибиторов NOS, таких как 7-NI или L-NAME (Zhu and Barr, Psychopharmacology 150 (3):325-336, 2000). В родственном исследовании показано, что более селективный ингибитор nNOS 7-NI сильнее ослабляет вызванные морфином симптомы отмены, включающие жевание, слюноотделение и половые действия, чем менее селективные соединения (Vaupel et al., Psychopharmacology (Berl.) 118 (4):361-8, 1995). Это указывает на то, что ингибирование NOS соединениями изобретения может быть благоприятным при лечении индуцированной морфином/опиоидом симптомов привыкания и отмены.

(c) Привыкание к этанолу и зависимость от этанола.

Среди факторов, которые оказывают влияние на зависимость от алкоголя, привыкание к действиям этанола, имеется важный компонент, поскольку он способствует чрезмерному употреблению алкогольных напитков (Le and Kiianmaa, Psychopharmacology (Berl.) 94:479-483, 1988). В исследовании с крысами быстро развивалась этанольная толерантность к потере координации при двигательной активности и гипотермии, и их можно было блокировать введением *i.c.v.* 7-NI без изменения церебральных концентраций этанола (Wazlawik and Morato, Brain Res. Bull. 57(2):165-70, 2002). В других исследованиях ингибирование NOS посредством L-NAME (Rezvani et al., Pharmacol. Biochem. Behav. 50:265-270, 1995) или посредством инъекции *i.c.v.* антисмыслового nNOS (Naassila et al., Pharmacol. Biochem. Behav. 67:629-36, 2000) уменьшало потребление этанола у этих животных. Это указывает на то, что ингибирование NOS соединениями изобретения может быть благоприятным при лечении привыкания к этанолу и зависимость от этанола.

Введение соединения изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, таким как, например, антагонист NMDA, может быть благоприятным для лечения химических зависимостей и привыканий к чрезмерному употреблению лекарственных средств.

Эпилепсия.

Совместное введение 7-NI с некоторыми противосудорожными средствами, такими как карбамазепин, показало синергическое защитное действие против вызванных электрическим воспалением миндалин эпилептических припадков у крыс при концентрациях, которые не изменяют действие *roto-rod* (Borowicz et al., Epilepsia 41(9):112-8, 2000). Таким образом, ингибитор NOS, такой как, например, соединение изобретения, либо отдельно, либо в комбинации с другим терапевтическим агентом, таким как, например, антиэпилептический агент, может быть применимым для лечения эпилепсии или подобного нарушения. Примеры противоэпилептических агентов, применимых в комбинации с соединением изобретения, включают карбамазепин, габапентин, ламотригин, окскарбазепин, фенилоин, топирамат и валпроат.

Диабетическая невропатия.

Мочевая экскреция побочных продуктов NO повышается у диабетических крыс после лечения стрептозотоцином, и предполагается, что повышенный синтез NO принимает участие в диабетической гломерулярной гиперfiltrации. Нейронная изоформа nNOS экспрессируется в петле Генле и *muscula densa* почки и ингибирование этой изоформы с применением 7-NI уменьшает гломерулярную filtration без влияния на давление почечной артериолы или почечный кровоток (Sigmon et al., Gen. Pharmacol. 34(2):95-100, 2000). Как неселективный ингибитор NOS L-NAME, так и селективный ингибитор NOS 7-NI нормализует почечную гиперfiltrацию у диабетических животных (Ito et al., J. Lab Clin. Med. 138(3):177-185, 2001). Следовательно, введение соединения изобретения может быть применимым для лечения диабетической нефропатии.

Головная боль вследствие чрезмерного употребления лекарственных средств.

Головная боль вследствие чрезмерного употребления лекарственных средств (МОН) связана с из-

быточным применением комбинации анальгетиков, опиоидов, барбитуратов, аспирина, NSAIDS, кофеина и триптанов и является обычной проблемой, которая ограничивает применимость этих типов лекарственных средств (Diener and Limmroth. Medication-overuse headache: a worldwide problem. *Lancet Neurol.* 2004;3, 475-483). Ее обычно определяют как головные боли, которые имеют место >15 дней в месяц (Headache Classification Committee. The International Classification of Headache Disorders (2nd Ed). *Cephalalgia* 2004; 24 (Suppl.1); 9-160). Хорошо документировано, что экстренное лечение пациентов с головной болью или головной болью типа напряжения повышало риск обострения головной боли, развития ежедневной головной боли или приводило к тому, что такие пациенты могли становиться невосприимчивыми к лечению при чрезмерном применении экстренной лекарственной терапии (Zeeberg et al. *Cephalalgia* 2006;26, 1192-1198). Пациенты с МОН обычно невосприимчивы к профилактическим лекарственным терапиям при чрезмерном применении лекарственных средств. В настоящее время для лечения МОН выбрана лекарственная терапия с прерыванием лечения, хотя это часто связано с симптомами отмены, такими как тошнота, рвота и нарушение сна. Хотя пациенты с мигренью или головной болью типа напряжения, страдающие МОН, которые прерывают лекарственную терапию в течение 2 месяцев, имеют снижение частоты головной боли (45%), многие пациенты либо не имеют изменений (48%) после отмены терапии, либо имеют обострение головной боли (Zeeberg et al. *Cephalalgia* 2006;26, 1192-1198). Таким образом, остается огромная неудовлетворенная потребность в лекарственной терапии для пациентов, страдающих МОН.

Считается, что некоторые характерные черты МОН, такие как повышенная частота головной боли, расширение площади головной боли и развитие кожной аллодинии, являются результатом индуцированной лекарственной терапией центральной сенсibilизации тройничных ноцицептивных путей и периакведуктальной зоны серого вещества головного мозга (Waeber and Moskowitz. Therapeutic implications of central and peripheral neurologic mechanisms in migraine. *Neurology*: 2003, 61(Suppl. 4); S9-20). Аналогично поведенческой сенсibilизации к психостимуляторам, повторное введение лекарственных средств для лечения головной боли (например, триптанов) приводит к перекрестной сенсibilизации среди различных лекарственных средств, применяемых для лечения головной боли. Изменения в синаптической пластичности включают изменения во внутриклеточных уровнях кальция и оксида азота. Пациенты, страдающие хронической головной болью, мигренью, и пациенты с МОН обнаруживают повышенные уровни нитратов тромбоцитов. Поэтому развитие сенсibilизации при МОН вероятно опосредуется изменениями в уровнях NO и кальция в ЦНС (Sarchielli et al. Nitric oxide pathway, Ca²⁺, and serotonin content in platelets from patients suffering from chronic daily headache. *Cephalalgia* 1999; 19; 810-816). При условии, что развитие центральной сенсibilизации опосредуется nNOS (Cizkova et al. *Brain. Res. Bull.* 2002; 58(2):161-171, Choi et al. *J. Neurol Sci.* 1996; 138(1-2):14-20) само по себе, предполагается, что нейронные ингибиторы (оксид азота)-синтазы, такие как соединения изобретения, могут быть применимыми при предотвращении и лечении МОН, если их применяют совместно с другими лекарственными средствами для лечения головной боли. Предполагается также, что лечение как СТТН, так и мигрени ингибиторами nNOS не приведет к развитию МОН.

Желудочно-кишечные нарушения.

nNOS составляет более чем 90% всей NOS в тонкой кишке. Хотя iNOS присутствует как составляющая, ее активность составляет меньше чем 10% общей активности NOS, и eNOS, по существу, не поддается детектированию в кишечнике (Qu XW et al. Type I nitric oxide synthase (NOS) is the predominant NOS in rat small intestine. Regulation by platelet-activating factor. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1451: 211-217). Считается, что основная функция nNOS в кишечнике регулируется перистальтикой кишки посредством нейронной передачи сигнала в компонентах NANC нервной системы. NO регулирует мышечный тонус сфинктера в нижней части пищевода, привратнике, сфинктере Oddi и анусе. NO регулирует также рефлекс аккомодации дна органа и перистальтический рефлекс кишечника. Известно, что ингибиторы NOS задерживают опорожнение желудка и прохождение содержимого толстой кишки (T. Takahashi J. *Gastroenterol.* 2003; 38(5):421-30). Таким образом, ингибиторы nNOS могут быть терапевтическими средствами при нарушениях GI, которые могут быть благотворными вследствие задержки опорожнения желудка или замедления прохода содержимого толстой кишки. Демпинг-синдром является нарушением, при котором пища покидает желудок слишком быстро, заполняя тонкую кишку непереваренной пищей, которая является неадекватно приготовленной, чтобы позволить питательным компонентам эффективно абсорбироваться в тонкой кишке, такой синдром часто наблюдается после гастроэктомии. Следовательно, введение соединения изобретения может быть применимо для лечения желудочно-кишечных нарушений, таких как демпинг-синдром. Соединения изобретения можно также применять для лечения других синдромов раздражаемого желудка.

Висцеральная боль.

Висцеральная боль является самой обычной формой боли и одной из наиболее трудно поддающихся лечению форм боли. Висцеральная боль отличается от соматической боли и обычно описывается как боль, которая происходит из внутренних полостей или органов тела и имеет пять важных клинических и сенсорных характеристик: (1) она не вызывается всеми висцеральными органами (например, печенью, почками, легкими); (2) не всегда связана с висцеральным повреждением (например, разрыв кишечника

не вызывает боль); (3) она является диффузной; (4) она относится к другим местоположениям и (5) ее можно отнести к другим автономным и двигательным рефлексам (например, тошноте, напряжению нижней-обратной мышцы из-за почечной колики) (Lancet 353, 2145-48, 1999). Предложено несколько теорий для механизмов висцеральной боли. По первой теории внутренние органы возбуждаются разными классами нейронов, один имеет дело с автономной регуляцией и другой с сенсорным феноменом, таким как боль. Вторая теория предполагает один однородный класс сенсорных рецепторов, которые являются активными при низких частотах (нормальные регулярные сигналы) или при высоких частотах активации (индуцируются сигналами интенсивной боли). Однако исследования показали, что внутренние органы возбуждаются двумя классами ноцицептивных сенсорных рецепторов: рецепторами с высокой пороговой величиной (в основном механическими рецепторами, найденными в сердце, венах, легких, дыхательных путях, пищеводе, билиарной системе, тонкой кишке, толстой кишке, мочеточнике, мочевом пузыре и матке, которые активируются вредными стимулами) и рецепторами кодирования с интенсивностью низкой пороговой величины, которые реагируют на нетоксичные и токсичные стимулы (сердца, пищевода, толстой кишки, мочевого пузыря и яичек). Еще одна теория предполагает компонент афферентных волокон, которые обычно невосприимчивы к стимулам (латентные ноцицепторы), которые могут стать активированными или сенсibilизированными во время воспаления (Trends Neurosci. 15, 374-78, 1992). После сенсibilизации эти ноцицепторы теперь реагируют на безвредные стимулы, которые обычно имеют место во внутренних органах, что приводит к созданию повышенной блокады для конвергентного входа в спинной мозг и затем запуску центральных механизмов, которые усиливают эффект периферического входа.

Висцеральная боль может быть результатом новообразования, инфекции или повреждения. Например, висцеральная боль может быть вызвана заболеванием или повреждением внутреннего органа, который направляет боль в другие части тела. Соединения изобретения можно также применять для лечения висцеральной боли, которая, например, является вторичной для синдрома раздражаемого желудка, синдрома воспаленного желудка, панкреатита, дивертикулита, болезни Крона, перитонита, перикардита, гепатита, аппендицита, колита, холецистита, гастроэнтерита, эндометриоза, дисменореи, интерстициального цистита, простатита, плеврита, диспепсии нижнего желудочно-кишечного тракта, почечных колик или билиарных колик; висцеральной боли, которая является вторичной к заболеванию печени, почки, яичника, матки, мочевого пузыря, кишечника, желудка, пищевода, двенадцатиперстной кишки, кишечника, толстой кишки, селезенки, поджелудочной железы, аппендикса, сердца или брюшины; висцеральной боли, которая является результатом новообразования или повреждения; или висцеральной боли, которая является результатом инфекции. Висцеральная боль, которую лечат способами изобретения, может быть воспалительной или невоспалительной.

Модели и анализы висцеральной боли являются известными в данной области (см., например, Bourdu et al., *Gastroenterology* 128:1996-2008, 2005; Vera-Portocarrero et al., *Gastroenterology* 130:2155-2164, 2006; and Sparmann et al., *Gastroenterology* 112:1664-1672, 1997).

Препараты комбинирования и их применение.

Помимо препаратов, описанных выше, одно или несколько соединений изобретения можно применять в комбинации с другими терапевтическими средствами. Например, одно или несколько соединений изобретения можно комбинировать с другим ингибитором NOS. Примеры ингибиторов, применимых для этой цели, включают, без ограничения, ингибиторы, описанные в патентах США № 6235747, 7141595 и 7375219; заявках на патенты США с номерами 09/127158, 09/325480, 09/403177, 09/802086, 09/826132, 09/740385, 09/381887, 10/476958, 10/483140, 10/484960, 10/678369, 10/819853, 10/938891, 11/436393, 11/787167, 12/054083 и 12/272656; международных публикациях WO 97/36871, WO 98/24766, WO 98/34919, WO 99/10339, WO 99/11620 и WO 99/62883.

В другом примере одно или несколько соединений изобретения можно комбинировать с антиаритмическим средством. Примеры антиаритмических агентов включают, без ограничения, лидокаин и мексилетин.

В комбинации с одним или несколькими соединениями изобретения можно также применять агонисты GABA-B, агонисты альфа-2-адренергического рецептора, антагонисты холецистокинина, 5HT_{1B/1D}-агонисты или антагонисты CGRP. Неограничивающие примеры агонистов альфа-2-адренергического рецептора включают клонидин, лофексидин и пропанолол.

Неограничивающие примеры антагонистов холецистокинина включают L-365260; CI-988; LY262691; S0509 или антагонисты, описанные в патенте США № 5618811. Неограничивающие примеры 5HT_{1B/1D}-агонистов, которые можно применять в комбинации с соединением изобретения, включают ди-гидроэрготамин, элетриптан, фровантриптан, наратриптан, ризатриптан, суматриптан, донитриптан или золмитриптан. Неограничивающие примеры антагонистов CGRP, которые можно применять в комбинации с соединением изобретения, включают аналоги хинина, описываемые в международной публикации WO 9709046, непептидные антагонисты, описываемые в международных публикациях WO 0132648, WO 0132649, WO 9811128, WO 9809630, WO 9856779, WO 0018764, или другие антагонисты, такие как SB-(+)-273779 или BIBN-4096BS.

Антагонисты вещества P, известные также в качестве антагонистов рецептора NK₁, являются также

применимыми в комбинации с одним или несколькими соединениями изобретения. Примеры ингибиторов, применимых для этой цели, включают, без ограничения, соединения-ингибиторы, описанные в патентах США № 3862114, 3912711, 4472305, 4481139, 4680283, 4839465, 5102667, 5162339, 5164372, 5166136, 5232929, 5242944, 5300648, 5310743, 5338845, 5340822, 5378803, 5410019, 5411971, 5420297, 5422354, 5446052, 5451586, 5525712, 5527811, 5536737, 5541195, 5594022, 5561113, 5576317, 5604247, 5624950 и 5635510; международных публикациях WO 90/05525, WO 91/09844, WO 91/12266, WO 92/06079, WO 92/12151, WO 92/15585, WO 92/20661, WO 92/20676, WO 92/21677, WO 92/22569, WO 93/00330, WO 93/00331, WO 93/01159, WO 93/01160, WO 93/01165, WO 93/01169, WO 93/01170, WO 93/06099, WO 93/10073, WO 93/14084, WO 93/19064, WO 93/21155, WO 94/04496, WO 94/08997, WO 94/29309, WO 95/11895, WO 95/14017, WO 97/19942, WO 97/24356, WO 97/38692, WO 98/02158 и WO 98/07694; публикациях европейских патентов № 284942, 327009, 333174, 336230, 360390, 394989, 428434, 429366, 443132, 446706, 484719, 499313, 512901, 512902, 514273, 514275, 515240, 520555, 522808, 528495, 532456 и 591040.

Подходящие классы антидепрессантных средств, которые можно применять в комбинации с соединением изобретения, включают, без ограничения, ингибиторы повторного поглощения норэпинефрина, селективные ингибиторы повторного поглощения серотонина (SSRI), селективные ингибиторы повторного поглощения норадреналина/норэпинефрина (NARI), ингибиторы моноаминоксидазы (MAO), обратимые ингибиторы моноаминоксидазы (RIMA), двойные ингибиторы повторного поглощения серотонина/норадреналина (SNRI), антагонисты α -адренорецептора, норадренергические и специфические серотонергические антидепрессанты (NaSSA) и атипичные антидепрессанты.

Неограничивающие примеры ингибиторов повторного поглощения норэпинефрина включают третичные аминовые трициклы и вторичные аминовые трициклы, такие как, например, адиназолам, аминептин, амоксапин, бутриптилин, демексиптилин, дезметиламитриптилин, дезметилкломипрамин, демексиптилин, дезипрамин, доксефин, дотиепин, флуацизин, имипрамин, оксид имипрамина, иприндол, лопрепамин, мапротилин, мелитрацен, метапрамин, норклолипрамин, нортриптилин, ноксиптилин, опипрамол, перлапин, пизотифен, пизотилин, пропизепин, протриптилин, хинупрамин, тианептин, тримипрамин, тримипраминамилтриптилиноксид и их фармацевтически приемлемые соли.

Неограничивающие примеры селективных ингибиторов повторного поглощения серотонина включают, например, кломипрамин, фемоксетин, флуоксетин, флувоксамин, пароксетин и сертралин и их фармацевтически приемлемые соли.

Неограничивающие примеры селективных ингибиторов повторного поглощения норадреналина/норэпинефрина включают, например, атомоксетин, бупропион, ребоксетин, томоксетин и виллоксазин и их фармацевтически приемлемые соли.

Неограничивающие примеры селективных ингибиторов повторного поглощения моноаминоксидазы включают, например, изокарбоксазид, фенелзин, транилципромин и селегилин и их фармацевтически приемлемые соли. Другие ингибиторы моноаминоксидазы, применимые в комбинации с соединением изобретения, включают клоргиллин, цимоксатон, бифлоксатон, брофаромин, базинаприн, BW-616U (Burrroughs Wellcome), BW-1370U87 (Burrroughs Wellcome), CS-722 (RS-722) (Sankyo), E-2011 (Eisai), хармин, хармалин, моклобемид, PharmaProjects 3975 (Hoechst), RO 41-1049 (Roche), RS-8359 (Sankyo), T-794 (Tanabe Seiyaku), толуксатон, K-Y 1349 (Kalir and Youdim), LY-51641 (Lilly), LY-121768 (Lilly), M&B 9303 (May & Baker), MDL 72394 (Marion Merrell), MDL 72392 (Marion Merrell), серклоремин и MO 1671 и их фармацевтически приемлемые соли. Подходящие обратимые ингибиторы моноаминоксидазы, которые можно применять в настоящем изобретении, включают, например, моклобемин и его фармацевтически приемлемые соли.

Неограничивающие примеры двойных ингибиторов повторного поглощения серотонина/норэпинефрина включают, например, дулоксетин, милнаципран, мirtазапин, нефазодон и венлафаксин.

Неограничивающие примеры других антидепрессантов, которые можно применять в способе настоящего изобретения, включают адиназолам, алапроклат, аминептин, амитриптилин, комбинацию амитриптилина/хлордiazепоксид, атипамезол, азамансерин, базинаприн, бифуралин, бифемелан, бинодалин, бипенамол, брофаромин, кароксазон, церикламин, цианопрамин, цимоксатон, циталопрам, клемепрол, кловоксамин, дазепинил, деанол, демексиптилин, дибензепин, диметакрин, дотиепин, дроксидапа, энефексин, эстазолам, этоперидон, фенгабин, фезоламин, флуотрацен, идазоксан, индалпин, инделоксазин, левопротилил, литоксетин; мефифоксамин, метралиндол, миансерин, минаприн, монтирелин, небрацетам, нефопам, ниаламид, номифензин, норфлуоксетин, оротирелин, оксафлоразон, пиназепам, пирлиндон, ритансерин, ролипрам, серклоремин, сетиптилин, сибутрамин, сулбутиамин, сулпирид, тенилоксазин, тозалинон, тимолиберин, тифлукарбин, тофенасин, тофизопам, толуксатон, вералиприд, виквалин, зимелидин и зометрапин и их фармацевтически приемлемые соли и растения зверобой пронзеннолистный или *Hypericum perforatum* или их экстракты.

В другом примере опиоиды можно применять в комбинации с одним или несколькими соединениями изобретения. Примеры опиоидов, применимых для этой цели, включают, без ограничения, алфентанил, буторфанол, бупренорфин, декстроморамид, дезоцин, декстропропоксифен, кодеин, дигидрокодеин,

дифеноксилат, эторфин, фентанил, гидрокодон, гидроморфон, кетобемидон, лоперамид, леворфанол, левометадон, меперидин, мептазиол, метадон, морфин, морфин-6-глюкуронид, налбуфин, налоксон, оксикодон, оксиморфон, пентазоцин, петидин, пиритрамид, пропоксифен, ремифентанил, сульфентанил, тилидин и трамадол.

Еще в одном примере противовоспалительные соединения, такие как стероидные средства или нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAID), можно применять в комбинации с одним или несколькими соединениями изобретения. Неограничивающие примеры стероидных средств включают преднизолон и кортизон. Неограничивающие примеры NSAID включают ацетематин, аспирин, цефекоксид, деракоксид, диклофенак, дифлунизал, этензамид, этофенамат, эторикоксид, фенпрофен, флуфенамовую кислоту, флурбипрофен, лоназолак, лорноксикам, ибупрофен, индометацин, изоксикам, кебузон, кетопрофен, кеторолак, напроксен, набуметон, нифлуминовую кислоту, сулиндак, толметин, пироксикам, меклофенамовую кислоту, мефенамовую кислоту, мелоксикам, метамизол, мофебутазон, оксифенбутазон, парекоксид, фенитидин, фенилбутазон, пироксикам, пропацетамол, пропифеназон, рофекоксид, салициламид, супрофен, тиапрофеновую кислоту, теноксикам, валдекоксид, 4-(4-циклогексил-2-метилоксазол-5-ил)-2-фторбензолсульфонамид, N-[2-(циклогексилокси)-4-нитрофенил]метансульфонамид, 2-(3,4-дифторфенил)-4-(3-гидрокси-3-метилбутокси)-5-[4-(метилсульфонил)фенил]-3(2H)-пиридазинон и 2-(3,5-дифторфенил)-3-[4-(метилсульфонил)фенил]-2-циклопентен-1-он). Соединения изобретения можно также применять в комбинации с ацетаминофеном.

Любую из указанных выше комбинаций можно применять для лечения любого подходящего заболевания, нарушения или состояния. Ниже описаны примеры применений комбинаций соединения изобретения и другого терапевтического агента.

Комбинации опиоид-ингибитор NOS, применяемые при хронической невропатической боли.

Повреждение нерва может привести к аномальным болезненным состояниям, известным как невропатическая боль. Некоторые из клинических симптомов включают тактильную аллодинию (ноцицептивные реакции на обычно безвредные механические стимулы), гипералгезию (боль с усиленной интенсивностью в ответ на обычно болезненные стимулы) и самопроизвольную боль. Лигирование спинномозгового нерва (SNL) у крыс является животной моделью невропатической боли, которая вызывает самопроизвольную боль, аллодинию и гипералгезию, аналогичные клиническим симптомам, наблюдаемым у пациентов-людей (Kim and Chung, *Pain* 50:355-363, 1992; Seltzer, *Neurosciences* 7:211-219, 1995).

Невропатическая боль может быть, в частности, нечувствительной к опиоидному лечению (Benedetti et al., *Pain* 74:205-211, 1998) и до сих пор считается, что она является относительно невосприимчивой к опиоидным анагетикам (MacFarlane et al., *Pharmacol. Ther.* 75:1-19, 1997; Watson, *Clin. J. Pain* 16:S49-S55, 2000). Хотя повышение дозы может преодолеть пониженную опиоидную эффективность, такое повышение ограничивается повышенными побочными действиями и толерантностью. Известно, что введение морфина активирует систему NOS, которая ограничивает анальгезирующее действие этого лекарственного средства (Machelska et al., *NeuroReport* 8:2743-2747, 1997; Wong et al., *Br. J. Anaesth.* 85:587, 2000; Xiangqi and Clark, *Mol. Brain. Res.* 95:96-102, 2001). Однако показано, что комбинированное системное введение морфина и L-NAME может ослабить механическую и холодную аллодинию при субпороговых дозах, при которых введение только одного лекарственного средства не было эффективным (Ulugol et al., *Neurosci. Res. Com.* 30(3):143-153, 2002). Влияние L-NAME при совместном введении с морфином на анальгезию морфином, по-видимому, опосредуется nNOS, поскольку L-NAME теряет свою способность потенцировать анальгезию морфина у ноль-мутантных мышей в отношении nNOS (Clark and Xiangqi, *Mol. Brain. Res.* 95:96-102, 2001). Повышенную анальгезию демонстрировали на моделях с подергиваниями хвостом и со сдавливанием лапы при применении совместного введения L-NAME или 7-NI с любым из мю-, дельта- или каппа-селективного опиоидного агониста (Machelska et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282:977-984, 1997).

Хотя опиоиды являются важными лекарственными средствами для лечения боли от умеренной до тяжелой, помимо обычных побочных действий, которые ограничивают их применение, парадоксикальное проявление до некоторой степени индуцированной опиоидом гипералгезии может фактически делать пациентов более чувствительными к боли и потенциально усиливать их боль (Angst and Clark, *Anesthesiology*, 2006, 104(3), 570-587; Chu et al. *J. Pain* 2006, 7(1) 43-48). Развитие толерантности и индуцированной опиоидом гипералгезии согласуется с повышенными уровнями продуцирования NO в головном мозге. Ослабленная анальгезирующая реакция на опиоиды является результатом NO-индуцированной позитивно регулируемой гипераналгезирующей реакции (Heinzen and Pollack, *Brain Res.* 2004, 1023, 175-184).

Таким образом, комбинация ингибитора nNOS с опиоидом (например, комбинации, описанные выше) может усилить опиоидную анальгезию при невропатической боли и предотвратить развитие опиоидной толерантности и индуцированной опиоидом гипералгезии.

Комбинации антидепрессант-ингибитор nNOS, применяемые при хронической боли, невропатической боли, хронической головной боли или мигрени.

Для лечения невропатической боли (McQuay et al., *Pain* 68:217-227, 1996) и мигрени (Tomkins et al., *Am. J. Med.* III: 54-63, 2001) применяют многие антидепрессанты, которые действуют посредством серо-

тонергической или норадренергической системы. NO служит в качестве нейромодулятора этих систем (Garthwaite and Boulton, *Annu. Rev. Physiol.* 57:683, 1995). Обнаружено, что 7-NI потенцирует высвобождение норадреналина (NA) посредством агониста никотинового рецептора ацетилхолина DMPP посредством переносчика NA (Kiss et al., *Neuroscience Lett.* 215:115-118, 1996). Было обнаружено, что местное введение антидепрессантов, таких как пароксетин, тианептин и имипрамин, снижает уровни NO гиппокампа (Wegener et al., *Brain Res.* 959:128-134, 2003). Вероятно, что NO является важным в механизме, при котором антидепрессанты являются эффективными для лечения боли и депрессии, и что комбинации ингибитора nNOS с антидепрессантом, такие как, например, комбинации, описанные выше, будут приводить к лучшим результатам лечения.

Комбинации 5HT_{1B/1D}-агониста серотонина или антагониста CGRP и ингибитора NOS, применяемые при мигрени.

Введение глицерилтринитрата (GTN), донора NO, индуцирует немедленные головные боли у нормальных индивидуумов и приводит к задержанным приступам мигрени у людей, подверженных мигрени, с 4-6-часовым латентным периодом (Iversen et al., *Pain* 38:17-24, 1989). У пациентов с приступом мигрени уровни CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide), сильнодействующего сосудорасширяющего агента, в сонной артерии коррелируют с началом и окончанием приступа мигрени (Durham, *Curr Opin Investig Drugs* 5(7):731-5, 2004). Суматриптан, лекарственное средство против мигрени, обладающий аффинностью у рецепторов 5HT_{1B}, 5HT_{1D} и 5HT_{1F}, уменьшает GTN-индуцированную немедленную головную боль и параллельно сжимает церебральные и экстрацеребральные артерии (Iversen and Olesen, *Cephalalgia* 13 (Suppl 13):186, 1993). Лекарственное средство против мигрени ризатриптан также снижает уровни CGRP плазмы после ослабления боли при мигрени (Stepien et al., *Neurol. Neurochir. Pol.* 37 (5):1013-23, 2003). Следовательно, как NO, так и CGRP принимают участие в мигрени в качестве причины. Обнаружено, что 5HT_{1B/1D}-агонисты серотонина блокируют индуцированную рецептором NMDA передачу сигнала NO в срезах коры головного мозга (Strosznajder et al., *Cephalalgia* 19(10):859, 1999). Эти результаты предполагают, что комбинация соединения изобретения и селективного или неселективного 5HT_{1B/1D/1F}-агониста, такие как комбинации, описанные выше, могут быть применимыми для лечения мигрени.

Фармацевтические композиции.

Соединения изобретения предпочтительно вводят в состав фармацевтических композиций для введения субъектам-людям в биологически совместимой форме, подходящей для введения *in vivo*. Соответственно этому, в другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение изобретения в смеси с подходящим разбавителем, носителем или эксципиентом.

Соединения изобретения можно применять в форме свободного основания, в форме солей, сольватов и в виде пролекарств. Все формы находятся в пределах объема изобретения. В соответствии со способами изобретения, описанные соединения или их соли, сольваты или пролекарства можно вводить пациенту в различных формах в зависимости от выбранного пути введения, что будет понятно специалисту в данной области. Соединения изобретения можно вводить, например, пероральным, парентеральным, буккальным, сублингвальным, назальным, ректальным, чрескожным введением или введением в виде пластыря или при помощи насоса и в составе изготовленных соответственно фармацевтических композиций. Парентеральное введение включает внутривенные, внутрибрюшинные, подкожные, внутримышечные, трансэпителиальные, назальные, внутрилегочные, подоболочечные, ректальные и местные способы введения. Парентеральное введение может быть непрерывной инфузией на протяжении выбранного периода времени.

Соединение изобретения можно вводить перорально, например, с инертным разбавителем или с усваиваемым, съедобным носителем, или его можно поместить в капсулу из твердой или мягкой желатиновой оболочки, или его можно прессовать в таблетки, или его можно ввести непосредственно в пищу для питания. Для перорального терапевтического введения соединения изобретения можно ввести с эксципиентом и применять в форме разжевываемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, облаток и т.п.

Соединение изобретения можно также вводить парентерально. Растворы соединения изобретения можно приготовить в воде, подходящим образом смешанной с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии можно также получить в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, ДМСО и их смесях со спиртом или без спирта и в масле. При обычных условиях хранения и применения эти препараты могут содержать консервант для предотвращения роста микроорганизмов.

Общепринятые методики и ингредиенты для выбора и получения подходящих препаратов описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (2003 - 20th edition) и в The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19), опубликовано в 1999 году.

Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для импровизированного получения стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко ввести через шприц.

Композиции для назального введения можно обычным образом изготовить в виде аэрозолей, ка-

пель, гелей и порошков. Аэрозольные препараты обычно включают раствор или тонкую суспензию активного вещества в физиологически приемлемом водном или неводном растворителе, и они обычно присутствуют в количествах одной или многих доз в стерильной форме в герметизированном контейнере, который может быть в форме картриджа, или их пополняют для применения в распыляющем устройстве. Или же герметизированный контейнер может быть распределяющим устройством однократного пользования, таким как ингалятор для носа с одной дозой или аэрозольный распределитель, который снабжен дозирующим клапаном и который предназначен для устранения после применения. Когда лекарственная форма содержит аэрозольный ингалятор, он содержит пропеллент, которым может быть сжатый газ, такой как сжатый воздух, или органический пропеллент, такой как фторхлоруглерод. Аэрозольные лекарственные формы могут быть также в форме распылителя с насосом.

Композиции, подходящие для трансбуккального или сублингвального введения, включают таблетки, лепешки и пастилки, в которых активный ингредиент изготовлен с носителем, таким как сахар, арабийская камедь, трагакант или желатин и глицерин. Композиции для ректального введения обычно имеют форму суппозиторий, содержащих общепринятую основу суппозитория, такую как какао-масло.

Соединения изобретения можно вводить животному, например человеку, как таковые или в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, указываемыми выше, количество которых определяется растворимостью и химической природой соединения, выбранного пути введения и стандартной фармацевтической практикой.

Доза соединений изобретения и/или композиций, содержащих соединения изобретения, может варьировать в зависимости от многих факторов, таких как фармакодинамические свойства соединения; способ введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; природа и экстенсивность симптомов; частота лечения и тип сопутствующего лечения, если оно требуется, и скорость выведения соединения из организма животного, подвергаемого лечению. Специалист в данной области может определить подходящую дозу на основе указанных выше факторов. Соединения изобретения можно вводить сначала в подходящей дозе, которую можно регулировать, если требуется, в зависимости от клинической реакции. В общем, удовлетворительные результаты можно получить, когда соединения изобретения вводят человеку при суточной дозе между 0,05 и 3000 мг (измерено в виде твердой формы). Предпочтительные диапазоны доз находятся между 0,05-500 мг/кг, более предпочтительно между 0,5-50 мг/кг.

Соединение изобретения можно применять отдельно или в комбинации с другими средствами, которые обладают NOS-ингибирующей активностью, или в комбинации с другими типами лечения (которые могут или не могут ингибировать NOS) для лечения, профилактики и/или снижения риска инсульта, невропатической или мигреновой боли или других нарушений, для которых благоприятным является ингибирование NOS. При комбинированных лечениях дозы одного или нескольких терапевтических соединений можно уменьшить по сравнению со стандартными дозами, когда их вводят отдельно. В этом случае дозы комбинаций соединений должны обеспечить терапевтическое действие.

Помимо указанных выше терапевтических применений соединения изобретения можно также применять в диагностических анализах, в анализах для скрининга и в качестве средств для исследований.

В диагностических анализах соединения изобретения может быть применимым при идентификации или детектировании активности NOS. Для такого применения соединения можно метить радиоактивным изотопом (как описано в другом месте контекста) и контактировать с популяцией клеток организма. Присутствие радиометки на клетках может указывать активность NOS.

В анализах для скрининга соединения изобретения можно применять для идентификации других соединений, которые ингибируют NOS, например, в качестве лекарственных средств первой генерации. В качестве средств для исследования соединения изобретения можно применять в анализах ферментов и анализах для изучения локализации активности NOS. Такая информация может быть применимой, например, для диагностики или мониторинга патологических состояний или их прогрессирования. В таких анализах соединения изобретения может быть радиомечены.

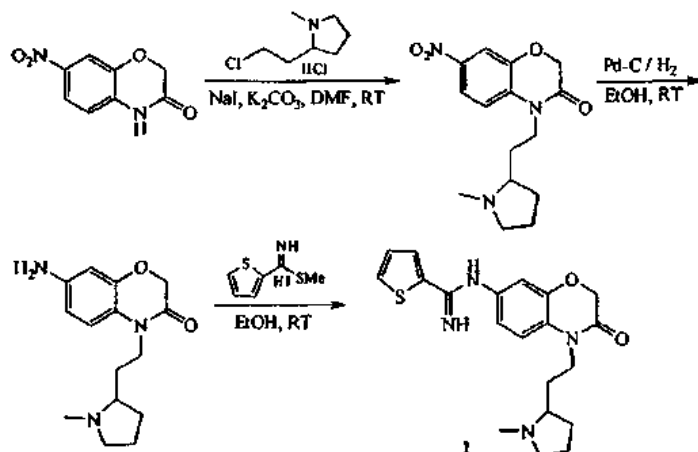
Анализ ингибирования NOS *in vivo*.

Обнаружено, что соединения настоящего изобретения проявляют селективное ингибирование нейронной изоформы NOS (nNOS). Эффективность соединений в отношении предпочтительного ингибирования ими nNOS по сравнению с iNOS и/или eNOS может проводить специалист в данной области, например, с применением способов, описанных в контексте в примере 34 и ниже.

Нижеследующие неограничивающие примеры являются иллюстративными примерами настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1: синтез N-(4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3-оксохроман-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (1)



7-Нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-он.

Получен согласно методике, описанной в J. Chem. Research (M) 2003, 1120-1128.

4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-он.

Суспензию гидрохлорида 7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-она (0,5 г, 2,575 ммоль), 2-(2-хлорэтил)-1-метилпирролидина (0,94 г, 5,150 ммоль), NaI (0,19 г, 1,287 ммоль) и K₂CO₃ (2,13 г, 15,452 ммоль) в сухом ДМФА (10 мл) перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь разбавляли водой (150 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (2×25 мл). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и неочищенное вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 3:97 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанное в заголовке соединение (0,525 г, 67%) в виде желтого твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 1,47-1,65 (м, 4H), 1,79-2,13 (м, 4H), 2,18 (с, 3H), 2,89-2,95 (м, 1H), 3,98 (т, 2H, J=7,8 Гц), 4,79 (с, 2H), 7,40 (д, 1H, J=9,0 Гц), 7,80 (д, 1H, J=2,7 Гц), 7,98 (дд, 1H, J=2,4, 9,0 Гц);

ESI-MS (m/z, %): 306 (MH⁺, 100).

7-Амино-4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-он.

Раствор 4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-она (0,49 г, 1,604 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали Pd-C (~0,05 г) и продували газообразным водородом. Из колбы откачивали воздух и колбу продували дважды газообразным водородом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные органические слои упаривали, получая при этом неочищенное указанное в заголовке соединение (0,44 г, количественный выход) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 1,39-1,51 (м, 2H), 1,56-1,66 (м, 2H), 1,76-2,06 (м, 4H), 2,16 (с, 3H), 2,88-2,94 (м, 1H), 3,74-3,86 (м, 2H), 4,46 (с, 2H), 5,01 (с, 2H), 6,22 (д, 1H, J=2,4 Гц), 6,26 (дд, 1H, J=2,1, 8,4 Гц), 6,82 (д, 1H, J=8,4 Гц);

ESI-MS (m/z, %): 276 (MH⁺, 100).

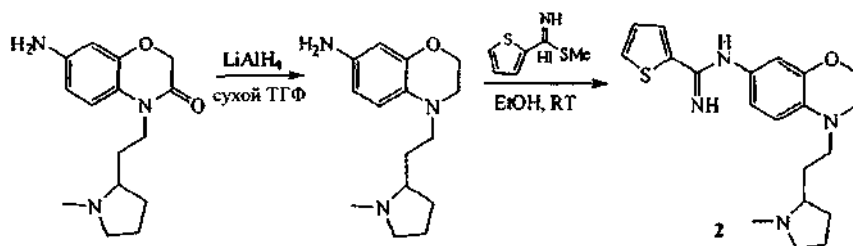
N-(4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-3-оксохроман-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (1).

Раствор 7-амино-4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4Н)-она (0,12 г, 0,435 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоатом (0,24 г, 0,871 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи (18 ч). В это время добавляли дополнительный гидроид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,24 г, 0,871 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 24 ч. Реакционный раствор разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ (25 мл) и продукт затем экстрагировали CH₂Cl₂ (2×20 мл). Объединенные слои CH₂Cl₂ промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанное в заголовке соединение 1 (0,155 г, 93%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 1,46-1,65 (м, 4H), 1,64-2,13 (м, 4H), 2,20 (с, 3H), 2,90-2,96 (м, 1H), 3,86-3,93 (м, 2H), 4,58 (с, 2H), 6,49-6,58 (м, 4H), 7,07-7,10 (м, 2H), 7,60 (д, 1H, J=5,4 Гц), 7,73 (д, 1H, J=3,0 Гц);

ESI-MS (m/z, %): 385 (MH⁺, 68), 274 (46), 193 (100); ESI-HRMS: вычислено для C₂₀H₂₅N₄O₂S (MH⁺) 385,1692; найдено 385,1687; чистота по ВЭЖХ: 98% общей площади.

Пример 2: синтез N-(4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)хроман-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (2)



7-Амино-4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Полные экспериментальные детали и спектральные данные см. в примере 1.

4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-амин.

Раствор LiAlH_4 (4,21 мл, 4,212 ммоль, 1,0 М раствор в ТГФ) обрабатывали по каплям 7-амино-4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-оном (0,29 г, 1,053 ммоль) в сухом ТГФ (5 мл) при 0°C. Образовавшуюся смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали на протяжении ночи. Реакционную смесь осторожно гасили последовательным добавлением воды (0,16 мл), 2N. раствором NaOH (0,16 мл) и водой (0,16 мл). Реакционную смесь фильтровали после перемешивания в течение 30 мин при комнатной температуре и промывали CH_2Cl_2 (3×10 мл). Объединенные слои CH_2Cl_2 упаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение (0,23 г, 84%) в виде сиропа.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 1,28-1,45 (м, 2H), 1,56-1,65 (м, 2H), 1,75-2,10 (м, 4H), 2,18 (с, 3H), 2,88-2,95 (м, 1H), 3,03-3,10 (м, 4H), 4,08 (т, 2H, $J=4,8$ Гц), 4,36 (с, 2H), 6,00 (д, 1H, $J=2,4$ Гц), 6,06 (дд, 1H, $J=2,4, 8,5$ Гц), 6,43 (д, 1H, $J=8,4$ Гц);

ESI-MS (m/z, %): 262 (MH^+ , 100), 163 (33), 112 (42).

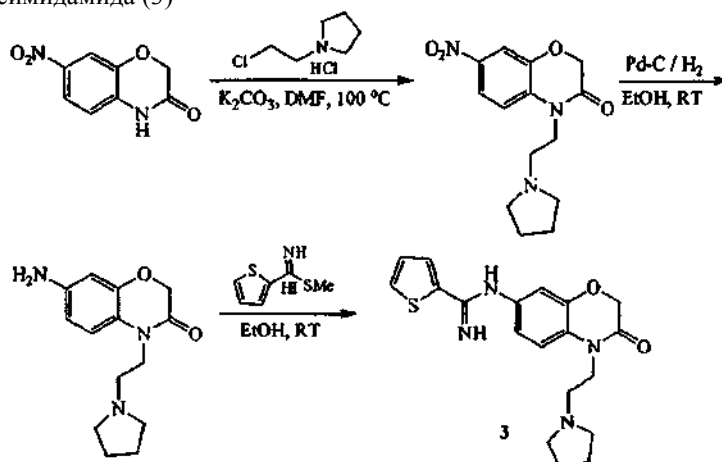
N-(4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)хроман-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (2).

Раствор 4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-амина (0,21 г, 0,803 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали гидроиодидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,45 г, 1,606 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (20 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (2×20 мл). Объединенные слои CH_2Cl_2 промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH_3 в смеси MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение 2 (0,22 г, 75%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 1,35-1,52 (м, 2H), 1,58-1,68 (м, 2H), 1,82-2,08 (м, 4H), 2,21 (с, 3H), 2,90-2,97 (м, 1H), 3,18-3,32 (м, 4H), 4,16 (т, 2H, $J=4,5$ Гц), 6,22-6,34 (м, 4H), 6,63 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,06 (дд, 1H, $J=3,9, 5,1$ Гц), 7,55 (д, 1H, $J=5,1$ Гц), 7,68 (д, 1H, $J=3,6$ Гц);

ESI-MS (m/z, %): 371 (M^+ , 86), 260 (56), 186 (100), 128 (81), ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{OS}$ (MH^+) 371,1900; найдено 371,1903; чистота по ВЭЖХ: 98,2% площади.

Пример 3: синтез N-(3-оксо-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (3)



7-Нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Получен согласно методике, описанной в J. Chem. Research (M) 2003, 1120-1128.

7-Нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Суспензию 7-нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-она (0,5 г, 2,575 ммоль), гидрохлорида 1-(2-

хлорэтил)пирролидина (0,43 г, 2,575 ммоль) и K_2CO_3 (1,06 г, 7,726 ммоль) в сухом ДМФА (5 мл) перемешивали при 100°C на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, разбавляли водой (100 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (2×25 мл). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 3:97 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение (0,49 г, 65%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 1,62-1,70 (м, 4H), 2,46-2,54 (м, 4H, слитый с ДМСО- d_6 резонансом), 2,60 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 4,08 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 4,80 (с, 2H), 7,44 (д, 1H, $J=9,3$ Гц), 7,80 (д, 1H, $J=2,4$ Гц), 7,96 (дд, 1H, $J=2,7, 9,0$ Гц);

ESI-MS (m/z, %): 292 (MH^+ , 100).

7-Амино-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Раствор 7-нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-она (0,46 г, 1,579 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали Pd-C (~0,05 г) и продували газообразным водородом. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 4 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные органические слои упаривали и сушили в вакууме, получая при этом неочищенное указанное в заголовке соединение (0,4 г, 97%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 1,61-1,70 (м, 4H), 2,44-2,56 (м, 6H, слитый с ДМСО- d_6), 3,90 (т, 2H, $J=7,2$ Гц), 4,47 (с, 2H), 5,01 (с, 2H), 6,22 (д, 1H, $J=2,4$ Гц), 6,25 (дд, 1H, $J=2,4, 8,2$ Гц), 6,84 (д, 1H, $J=8,7$ Гц);

ESI-MS (m/z, %): 262 (MH^+ , 100), 191 (44).

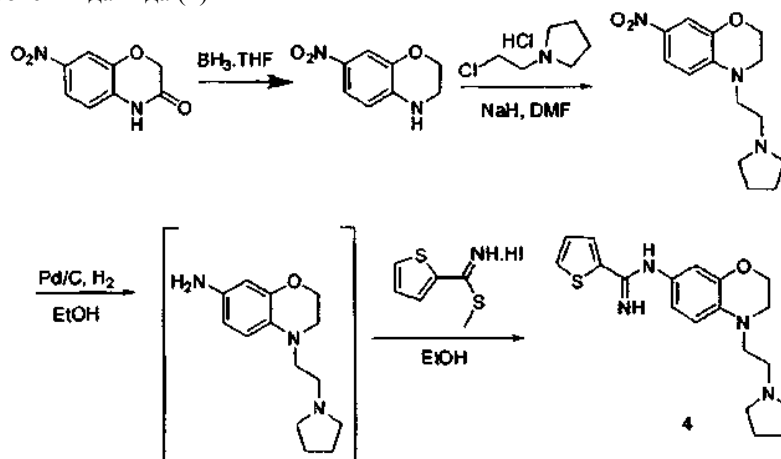
N-((3-Оксо-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (3).

Раствор 7-амино-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он (0,125 г, 0,478 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали гидроиодидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,27 г, 0,956 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали в течение 2 дней. Реакционную смесь затем разбавляли насыщенным раствором $NaHCO_3$ (20 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (2×20 мл). Объединенные слои CH_2Cl_2 промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 3:93 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение 3 (0,16 г, 90%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 1,64-1,72 (м, 4H), 2,46-2,54 (м, 4H, слитый с ДМСО- d_6 резонансом), 2,60 (т, 2H, $J=7,2$ Гц), 3,99 (т, 2H, $J=7,2$ Гц), 4,58 (с, 2H), 6,47-6,57 (м, 4H), 7,06-7,12 (м, 2H), 7,60 (д, 1H, $J=4,2$ Гц), 7,73 (д, 1H, $J=3,3$ Гц);

ESI-MS (m/z, %): 371 (MH^+ , 66), 150 (63), 128 (100); ESI-HRMS: вычислено для $C_{19}H_{23}N_4O_2S$ (MH^+) 371,1536; найдено 371,1548; чистота по ВЭЖХ: 93,17% площади.

Пример 4: синтез N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (4)



7-Нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Получен согласно методике, описанной в J. Chem. Research (M) 2003, 1120-1128.

7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин.

Суспензию 7-нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-3(4H)-она (300 мг, 1,545 ммоль) в ТГФ (3 мл) обрабатывали комплексом BH_3 -ТГФ (15,45 мл, 15,45 ммоль, 1,0 М раствор в ТГФ) и образовавшийся оранжевый раствор кипятили с обратным холодильником на протяжении ночи. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане. Добавляли MeOH (15 мл) и реакционную смесь затем концентрировали. Добавляли вторую порцию MeOH (20 мл) и раствор кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. В это время реакционную смесь концентрировали и остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (10%

EtOAc:90% гексан, затем 30% EtOAc:70% гексан). После сушки при пониженном давлении получали оранжевое твердое вещество (240 мг, 86%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,68 (дд, $J=2,4$, 8,9 Гц, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,47 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,63 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,15 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,45-3,40 (м, 2H).

7-Нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин.

Раствор 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазина (300 мг, 1,665 ммоль) в ДМФА (10 мл) обрабатывали NaN (213 мг, 5,33 ммоль, 60 мас.%, в минеральном масле) при 0°C, получая при этом ярко-оранжевую суспензию. Смесь перемешивали в течение 10 мин. Затем добавляли гидрохлорид 2-хлорэтилпирролидина (566 мг, 3,33 ммоль), и реакционная смесь превращалась в ярко-красную суспензию. Реакционную смесь нагревали до 90°C в течение 1 ч и затем охлаждали до комнатной температуры. Смесь затем разбавляли водой (20 мл), переносили в делительную воронку и экстрагировали EtOAc (2×15 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли (3×5 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением CH_2Cl_2 , затем смеси 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом твердое вещество (330 мг, 72%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,75 (дд, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 7,47 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 6,80 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,18 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,58-3,55 (м, 4H), 2,63 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,58-2,48 (м, 4H), 1,70-1,63 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 278 (MH^+ , 100), 98 (20).

N-(4-(2-(Пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (4).

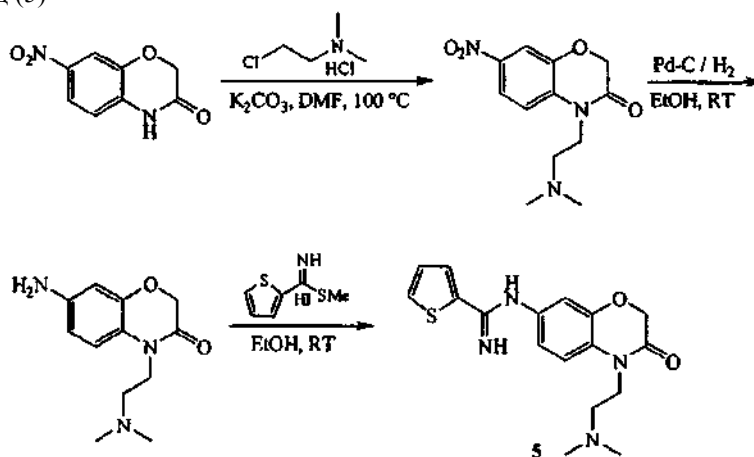
Суспензию 7-нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазина (330 мг, 1,190 ммоль) и Pd-C (252 мг, 0,238 ммоль, 10 мас.%) в сухом EtOH (10 мл) продували газообразным водородом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч в атмосфере водорода (давление баллона). Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали EtOH (25 мл). Фильтрат обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,678 г, 2,377 ммоль) и перемешивали в течение трех дней при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (50 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (3×25 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2:98 MeOH: CH_2Cl_2 , затем 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом желтое твердое вещество (150 мг, 36%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,70 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 7,57 (дд, $J=5,1$, 0,9 Гц, 1H), 7,08 (дд, $J=5,1$, 3,9 Гц, 1H), 6,65 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,34 (дд, $J=2,4$, 8,4 Гц, 1H), 6,252 (д, $J=2$, 4 Гц, 1H), 6,36-6,25 (м, 2H), 4,15 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,38-3,30 (м, 4H), 2,64 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,58-2,48 (м, 4H), 1,70-1,67 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 357 (MH^+ , 100), 260 (40), 98 (27);

ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{OS}$ (MH^+) 357,1743; найдено 357,1734; чистота по ВЭЖХ: 95,8% площади.

Пример 5: N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (5)



7-Нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Получен согласно методике, описанной в J. Chem. Research (M) 2003, 1120-1128.

4-(2-(Диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Суспензию 7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-она (0,5 г, 2,575 ммоль), гидрохлорида 2-хлор-N,N-диметиламина (0,37 г, 2,575 ммоль) и K_2CO_3 (1,06 г, 7,726 ммоль) в сухом ДМФА (5 мл) перемешивали при 100°C на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, разбавляли водой (100 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (2×25 мл). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и затем сушили (Na_2SO_4). Растворитель

выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 3:97 (2 М NH_3 в MeOH): (CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение (0,52 г, 76%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2,17 (с, 6H), 2,42 (т, 2H, $J=6,6$ Гц), 4,07 (т, 2H, $J=6,6$ Гц), 4,79 (с, 2H), 7,45 (д, 1H, $J=9,0$ Гц), 7,80 (д, 1H, $J=2,7$ Гц), 7,96 (дд, 1H, $J=2,4, 9,0$ Гц);

ESI-MS (m/z , %): 266 (MH^+ , 100), 221 (66).

7-Амино-4-(2-(диметиламино)этил)-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-он.

Раствор 4-(2-(диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-она (0,5 г, 1,884 ммоль) в сухом этаноле (5 мл) обрабатывали Pd-C (~0,05 г) и продували газообразным водородом. Из колбы выкачивали газ и продували газообразным водородом (дважды) и раствор перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные органические слои упаривали, получая при этом сырое, указанное в заголовке соединение (0,44 г, количественный выход) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2,16 (с, 6H), 2,36 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 3,88 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 4,47 (с, 2H), 5,01 (с, 2H), 6,21 (д, 1H, $J=2,1$ Гц), 6,25 (дд, 1H, $J=2,1, 8,5$ Гц), 6,84 (д, 1H, $J=8,4$ Гц);

ESI-MS (m/z , %): 236 (MH^+ , 31), 191 (100).

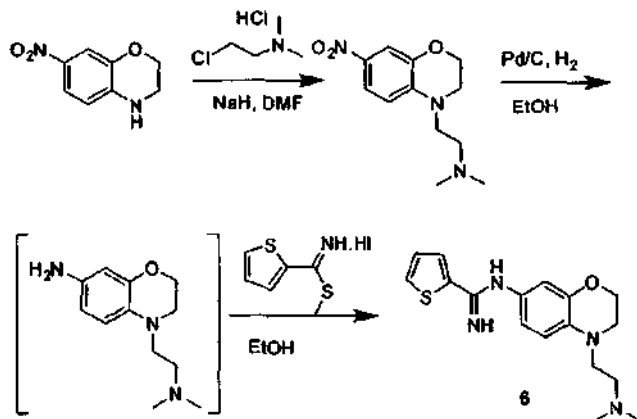
N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (5).

Раствор 7-амино-4-(2-(диметиламино)этил)-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-3(4H)-она (0,125 г, 0,531 ммоль) в сухом этаноле (10 мл) обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,3 г, 1,062 ммоль) при комнатной температуре и перемешивали на протяжении ночи (18 ч). В это время добавляли дополнительный гидроид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,3 г, 1,062 ммоль) и перемешивание продолжали в течение еще 24 ч. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (20 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (2×20 мл). Объединенные слои CH_2Cl_2 промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом указанное в заголовке соединение 5 (0,16 г, 88%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 2,19 (с, 6H), 2,43 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 3,97 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 4,58 (с, 2H), 6,48-6,58 (м, 4H), 7,06-7,14 (м, 2H), 7,60 (д, 1H, $J=5,1$ Гц), 7,74 (д, 1H, $J=3,3$ Гц);

ESI-MS (m/z , %): 345 (MH^+ , 100), 128 (85); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ (MH^+) 345,1379; найдено 345,1384; чистота по ВЭЖХ: 93,15% площади.

Пример 6: синтез N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (6)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин.

Полные экспериментальные детали и данные спектров см. в примере 4.

N,N-Диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанамин.

Раствор 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазина (240 мг, 1,33 ммоль) в ДМФА (10 мл) обрабатывали NaH (170 мг, 4,26 ммоль, 60 мас.%, в минеральном масле) при 0°C, получая при этом оранжевую смесь. Смесь затем обрабатывали гидрохлоридом 2-хлор-N,N-диметиламина (384 мг, 2,66 ммоль) с получением темно-красной смеси. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. В это время реакционную смесь затем нагревали до 90°C и перемешивали в течение еще 45 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли воду (15 мл) и реакционную смесь экстрагировали EtOAc (2×12 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли (3×5 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя CH_2Cl_2 , затем смесью 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом желто-оранжевое твердое вещество (210 мг, 63%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,75 (дд, $J=2,7$, 9,0 Гц, 1H), 7,48 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 6,82 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,18 (т, $J=4,5$ Гц, 2H), 3,57-3,53 (м, 4H), 2,54-2,45 (м, 2H), 2,23 (с, 6H).

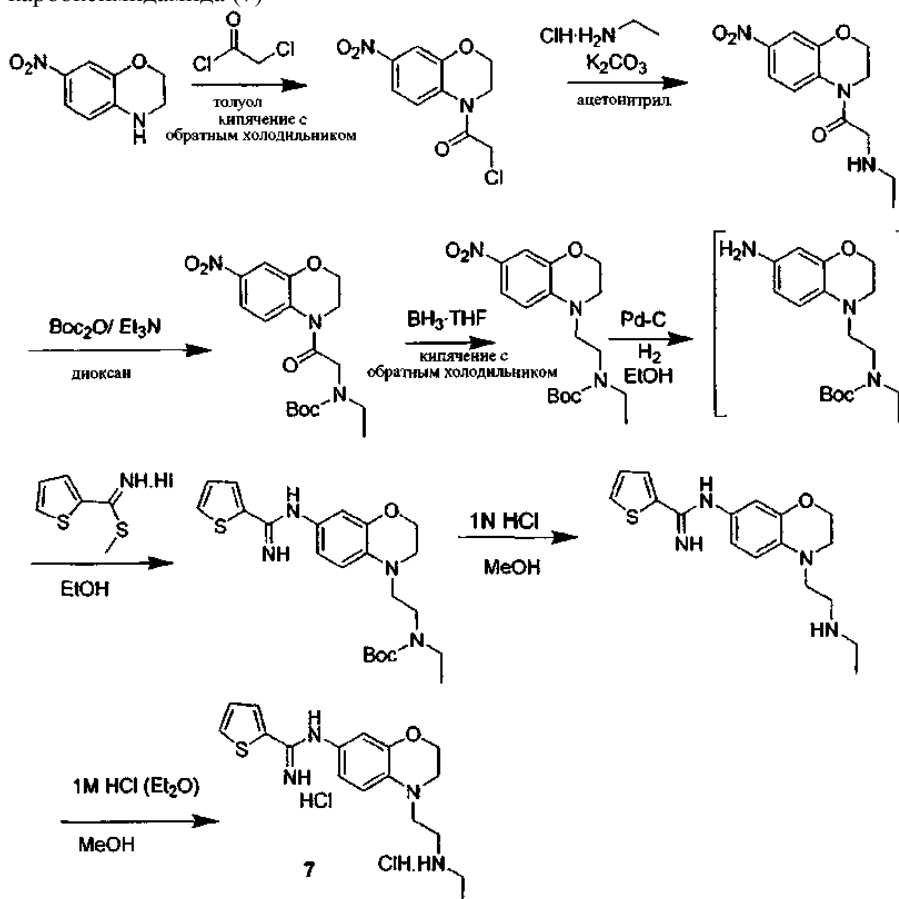
N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (6).

Суспензию N,N-диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанамин (210 мг, 0,836 ммоль) и Pd-C (10 мас.%, 89 мг, 0,084 ммоль) в сухом EtOH (15 мл) продували газообразным водородом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере водорода (давление баллона). Реакционную смесь затем фильтровали через подушку целита и промывали EtOH (15 мл). Светло-пурпурный фильтрат концентрировали, получая при этом сырой 4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-амин. Раствор этого сырого 4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-амин (185 мг, 0,836 ммоль) в сухом EtOH (10 мл) обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоатом (477 мг, 1,672 ммоль) и смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO_3 (50 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (3×25 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2:98 MeOH: CH_2Cl_2 , затем смеси 5:95 (2 M NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом желтое твердое вещество (150 мг, 54%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,69 (дд, $J=3,6$, 0,9 Гц, 1H), 7,56 (дд, $J=5,1$, 0,9 Гц, 1H), 7,07 (дд, $J=5,1$, 3,9 Гц, 1H), 6,64 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,35-6,26 (м, 4H), 4,14 (т, $J=3,9$ Гц, 2H), 3,33-3,29 (м, 4H), 2,42 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,19 (с, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 331 (MH^+ , 100), 260 (25); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{OS}$ (MH^+) 331,1587, найдено 331,1594; чистота по ВЭЖХ: 99,0% площади.

Пример 7: синтез дигидрохлорида N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (7)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин.

Полные экспериментальные детали и данные спектров см. в примере 4.

2-Хлор-1-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанон.

Суспензию 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазина (8 г, 44,4 ммоль) в безводном толуоле (100 мл) при положительном давлении аргона обрабатывали по каплям 2-хлорацетилхлоридом (3,91 мл, 48,8 ммоль). Смесь нагревали при кипячении с обратным холодильником в течение 25 мин, и она становилась ярко-желтым раствором. Раствору давали возможность охладиться до комнатной температуры и добавляли насыщенный раствор NaHCO_3 (150 мл). Смесь переносили в делительную воронку и продукт

экстрагировали CH_2Cl_2 (2×200 мл). Объединенные органические слои фильтровали через подушку силикагеля, промывали CH_2Cl_2 (50 мл) и концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество (10 г, 88%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 8,22 (д, $J=9$, 0 Гц, 1H), 7,80 (дд, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 7,72 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 4,74 (с, 2H), 4,40 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,94 (т, $J=4,8$ Гц, 2H);

ESI-MS (m/z , %): 279 (MNa^+ , 30), 257 (MH^+ , 100).

2-(Этиламино)-1-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанол.

Раствор 2-хлор-1-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанола (9,9 г, 38,6 ммоль) в безводном ацетонитриле (250 мл) при положительном давлении аргона обрабатывали K_2CO_3 (42,7 г, 309 ммоль), получая при этом желтую суспензию. Смесь охлаждали до 0°C и обрабатывали гидрохлоридом этанамина (15,7 г, 193 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2,5 ч. Смесь затем фильтровали через подушку целита, промывали CH_2Cl_2 (500 мл) и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением EtOAc , затем смеси 2,5:97,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом желтое твердое вещество (7,73 г, 76%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 8,29 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,80 (дд, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 7,71 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 4,36 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,93 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,71 (с, 2H), 2,62 (кв, $J=7,2$ Гц, 2H), 1,05 (т, $J=7,2$ Гц, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 266,1 (MH^+ , 100).

трет-Бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

Под положительным давлением аргона раствор 2-(этиламино)-1-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этанола (7,73 г, 29,1 ммоль), ди-трет-бутилдикарбоната (6,68 г, 30,6 ммоль) и триэтиламина (8,19 мл, 58,3 ммоль) в безводном 1,4-диоксане (100 мл) перемешивали в течение получаса при комнатной температуре. Смесь разбавляли водой (200 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (2×200 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли (100 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подвергали хроматографии на короткой колонке силикагеля с применением CH_2Cl_2 , затем смеси 2,5:97,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , получая при этом твердое вещество (8,83 г, 83%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 8,30-8,22 (м, 1H), 7,82-7,78 (м, 1H), 7,71-7,70 (м, 1H), 4,36-4,28 (м, 4H), 3,94-3,92 (м, 2H), 3,24 (т, $J=2,7$ Гц, 2H), 1,40, 1,30 (2×с, 9H), 1,07-1,04 (м, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 388 (MNa^+ , 50), 366 (MH^+ , 35), 266 (100).

трет-Бутилэтил(2-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

Желтый раствор трет-бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (8,7 г, 23,8 ммоль) в безводном ТГФ (50 мл) под положительным давлением аргона обрабатывали комплексом боран-ТГФ (1 М раствор в ТГФ, 47,6 мл, 47,6 ммоль), получая при этом оранжевый раствор. Смесь кипятили с обратным холодильником в течение 20 мин. Ее затем охлаждали на ледяной бане и обрабатывали по каплям MeOH (100 мл). Раствор перемешивали в течение получаса при комнатной температуре и реакционную смесь затем концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 1:9 EtOAc :гексаны, получая при этом оранжевое твердое вещество (7,5 г, 91%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 7,72 (дд, $J=2,7$, 9,0 Гц, 1H), 7,49-7,47 (м, 1H), 6,85-6,83 (м, 1H), 4,18 (т, $J=4,2$ Гц, 2H), 3,59-3,53 (м, 2H), 3,37-3,36 (м, 2H), 3,20-3,18 (м, 2H), 1,47 (с, 2H), 1,30 (ушир.с, 9H), 1,02 (т, $J=6,9$ Гц, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 374 (MNa^+ , 86), 352 (MH^+ , 7,8), 296 (100), 252 (87).

трет-Бутилэтил(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

Суспензию трет-бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (7 г, 19,92 ммоль) и Pd-C (2,11 г, 1,992 ммоль, 10 мас.%) в безводном EtOH (100 мл) продували газообразным водородом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч в атмосфере водорода (давление баллона). Реакционную смесь фильтровали через подушку целита и промывали EtOH (50 мл). Фильтрат, содержащий трет-бутил-2-(7-амино-2H-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3H)-ил)этил(этил)карбамат, обрабатывали гидроиодидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (11,36 г, 39,8 ммоль) и перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали и затем распределяли между насыщенным раствором NaHCO_3 (150 мл) и CH_2Cl_2 (75 мл). Смесь переносили в делительную воронку и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (2×100 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением последовательности элюэнтов (CH_2Cl_2 ; смесь 1:99 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 ; смесь 1,75:98,25 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 и смесь 2,5:97,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом коричневое твердое вещество (4 г, 46,7%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,43-7,41 (м, 2H), 7,11-7,05 (м, 1H), 6,72-6,69 (м, 1H), 6,54-6,51 (м, 2H), 4,23-4,20 (м, 2H), 3,39-3,25 (м, 8H), 1,47 (с, 9H), 1,11-1,10 (м, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 431 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(Этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаид.

Под положительным давлением аргона оранжевую суспензию трет-бутилэтил-(2-(7-(тиофен-2-карбосимидаидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (4 г, 9,29 ммоль) в MeOH (30 мл) и 1н. HCl (30 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры, переносили на ледяную баню и затем добавляли 1н. NaOH (75 мл). Раствор приобретал молочно-зеленый цвет с черной суспензией. Смесь затем обрабатывали CH₂Cl₂ (50 мл) и перемешивали в течение получаса. После этого времени смесь переносили в делительную воронку и продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (2×50 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄) и концентрировали. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением последовательности элюентов: EtOAc; смесь 1:99 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂; смесь 2,5:97,5 (2 М NH₃ в MeOH) и смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂. Получали коричневое твердое вещество (2 г, 65,1%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,40-7,37 (м, 2H), 7,07-7,04 (м, 1H), 6,75-6,72 (м, 1H), 6,52-6,50 (м, 2H), 4,82 (ушир.с, 2H), 4,24 (т, J=4,5 Гц, 2H), 3,39-3,31 (м, 4H), 2,86 (т, J=6,3 Гц, 2H), 2,71 (кв, J=6,9 Гц, 2H), 1,13 (т, J=7,2 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 331 (MH⁺, 100), 260 (95); Чистота по ВЭЖХ: 94,1% площади.

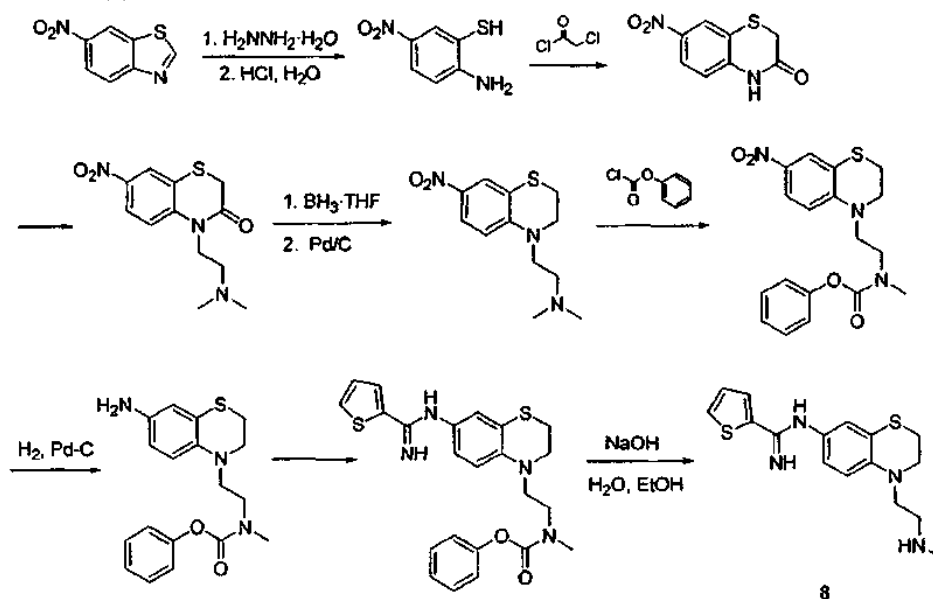
Дигидрохлорид N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаида (7).

Суспензию N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаида (0,1 г, 0,303 ммоль) в MeOH (3 мл) под положительным давлением аргона обрабатывали 1 М эфирным раствором HCl (1,51 мл, 1,51 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и смесь затем концентрировали, получая при этом желто-коричневое твердое вещество (93 мг, 76%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 11,20 (ушир.с, 1H), 9,67 (ушир.с, 1H), 9,23 (ушир.с, 2H), 8,67 (ушир.с, 1H), 8,16-8,08 (м, 2H), 7,37-7,36 (м, 1H), 7,04 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,87-6,81 (м, 2H), 4,30-4,25 (м, 2H), 3,66 (т, J=6,3 Гц, 2H), 3,12-2,95 (м, 4H), 2,58-2,45 (м, 2H), 1,24 (т, J=7,2 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 331 (MH⁺ свободное основание, 100), 260 (95); ESI-HRMS: вычислено для C₁₉H₂₅N₄OS (MH⁺, свободное основание) 331,1587, найдено 331,1597; чистота по ВЭЖХ: 95,4% площади.

Пример 8: синтез N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаида (8)



2-Амино-5-нитробензолтиол.

К перемешиваемой суспензии 6-нитробензо[*d*]тиазола (1,64 г, 9,10 ммоль) в этаноле (16 мл) добавляли гидразингидрат (2,66 мл, 54,6 ммоль). Образовавшийся темный раствор перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли водой и медленно подкисляли 3 М HCl, получая при этом желтую суспензию. Смесь затем экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические слои сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество, применяемое непосредственно в последующей реакции.

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 8,09 (ушир.с, 1H), 7,87 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,74 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,27 (ушир.с, 2H);

MS-EI: (m/z, %) 170 (M⁺, 100), 140 (28), 124 (35).

7-Нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-3(4Н)-он.

К перемешиваемому раствору 2-амино-5-нитробензолтиола (1,72 г, 10,11 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляли бикарбонат натрия (2,80 г, 33,4 ммоль) в виде раствора в воде (40,0 мл). К этому

темно-красному раствору добавляли 2-хлорацетилхлорид (0,885 мл, 11,12 ммоль). Образовавшуюся смесь, которая становилась светло-красной, затем перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь затем разбавляли водой и экстрагировали три раза дихлорметаном. Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в 10% этилацетате в дихлорметане, получая при этом требуемый продукт (1,02 г, 48,0%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 11,17 (с, 1H), 8,24 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 8,07 (дд, $J=9,0$, 2,7 Гц, 1H), 7,13 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,60 (с, 2H);

MS-EI: (m/z, %) 210 (M^+ , 100), 181 (40), 131 (46).

4-(2-(Диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-3(4H)-он.

К перемешиваемой суспензии 7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-3(4H)-она (1,02 г, 4,85 ммоль) и карбоната натрия (4,69 г, 34,0 ммоль) в ДМФА (30 мл) в колбе для проведения реакций под давлением в атмосфере аргона добавляли гидрохлорид 2-хлор-N,N-диметилэтанамин (3,49 г, 24,26 ммоль). Колбу сразу герметизировали и нагревали при перемешивании до 90°C на протяжении ночи. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и экстрагировали (2×этилацетатом). Объединенные органические слои затем промывали смесью 1:1 насыщенного раствора соли и воды (3×), затем насыщенным раствором соли (1×). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в 5% растворе (2 M NH_3 в MeOH) в дихлорметане, получая при этом требуемый продукт (755 мг, 55,3%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,30 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 8,13 (дд, $J=9,3$, 2,7 Гц, 1H), 7,59 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 4,11 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,62 (с, 2H), 2,41 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,17 (с, 6H);

MS-EI: (m/z, %) 281 (M^+ , 55), 251 (65), 58 (100).

N,N-Диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин.

К перемешиваемому раствору 4-(2-(диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-3(4H)-она (730 мг, 2,59 ммоль) в тетрагидрофуране (3 мл) в атмосфере аргона добавляли боран (1 M раствор в ТГФ; 7,784 мл, 7,78 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре, получая при этом желтый осадок. Смесь быстро нагревали до 60°C и твердое вещество измельчали. Реакционную смесь затем охлаждали до 0°C и гасили метанолом (добавляли медленно до прекращения выделения пузырьков). Смесь затем концентрировали, снова растворяли в MeOH (15 мл) и 1 M HCl (5 мл) и нагревали до 60°C в течение 30 мин. Подвергнутую гашению смесь затем разбавляли водой и карбонатом натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в этилацетате, получая при этом желтое твердое вещество, требуемый комплекс в виде комплекса с бораном, который непосредственно применяли в последующей реакции.

К перемешиваемому раствору комплекса N,N-диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанаминборан (350 мг, 1,245 ммоль) в метаноле (5 мл) и ТГФ (10 мл) в атмосфере аргона добавляли 10% Pd-C (132 мг, 0,124 ммоль). Смесь затем перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Суспензию затем фильтровали через подушку целита, концентрировали и хроматографировали в 5% растворе (2 M NH_3 в MeOH) в дихлорметане, получая при этом требуемый продукт (106,6 мг, 32,0%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,85-7,81 (м, 2H), 6,81 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,81 (т, $J=5,1$ Гц, 2H), 3,56 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,06 (т, $J=5,1$ Гц, 1H), 2,47 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,21 (с, 6H);

MS-EI: (m/z, %) 267 (M^+ , 13), 179 (29), 58 (100).

Фенилметил-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору N,N-диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин (100 мг, 0,374 ммоль) в дихлорметане (5 мл) в атмосфере аргона добавляли фенилкарбонхлоридат (0,094 мл, 0,748 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре. Наблюдали образование осадка, и для обеспечения растворения добавляли триэтиламин (3 капли) (реакционная смесь становилась прозрачной). Смесь затем перемешивали на протяжении уикенда. Прозрачную желтую смесь затем разбавляли водой и карбонатом натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в этилацетате, получая при этом требуемый продукт (139 мг, 100%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,84-7,74 (м, 2H), 7,39-7,31 (м, 2H), 7,23-7,16 (м, 1H), 7,03-6,93 (м, 3H), 3,85-3,78 (м, 3H), 3,73-3,65 (м, 2H), 3,55-3,50 (м, 1H), 3,09, 2,97 (2с, 3H), 3,09-3,05 (м, 2H);

MS-EI: (m/z, %) 373 (M^+ , 4), 209 (31), 179 (100), 151 (28).

Фенил-2-(7-амино-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил(метил)карбамат.

К перемешиваемому раствору фенилметил-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (100 мг, 0,268 ммоль) в тетрагидрофуране (4 мл) и этаноле (4,00 мл) в атмосфере аргона добавляли 10% Pd-C (28,5 мг, 0,027 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи в атмосфере водорода (давление баллона). Смесь затем фильтровали через подушку целита и концентрировали, получая при этом требуемый продукт (81 мг, 88%) в виде темного масла.

MS-EI: (m/z, %) 343 (M^+ , 64), 179(100), 151(45).

Фенилметил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору фенил-2-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамата (80 мг, 0,233 ммоль) в этаноле (5 мл) в атмосфере аргона добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (133 мг, 0,466 ммоль). Смесь затем перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли водой и карбонатом натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (2×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в этилацетате, получая при этом требуемый продукт (72 мг, 68%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,74-7,69 (м, 1H), 7,58-7,56 (м, 1H), 7,42-7,34 (м, 2H), 7,25-7,17 (м, 1H), 7,14-7,05 (м, 3H), 6,83-6,80 (м, 1H), 6,53-6,44 (м, 2H), 6,36 (ушир.с, 2H), 3,63-3,55 (м, 4H), 3,49-3,45 (м, 2H), 3,11, 2,98 (2с, 3H), 3,06-3,01 (м, 2H);

MS-EI: (m/z, %) 452 (M⁺, 97), 288 (100).

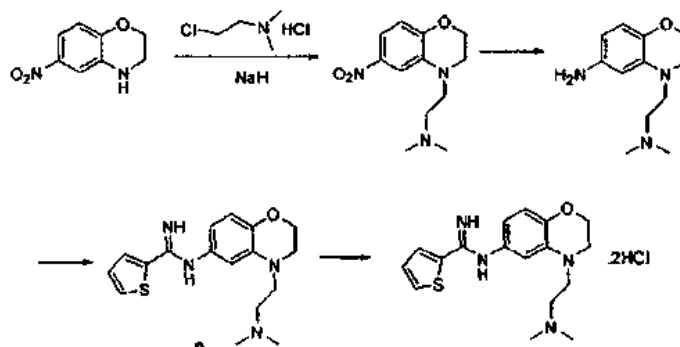
N-(4-(2-(Метиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамин (8).

К перемешиваемому раствору фенилметил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (65 мг, 0,144 ммоль) в этаноле (4 мл) добавляли гидроксид натрия (57,4 мг, 1,436 ммоль) в виде раствора в воде (2 мл). Образовавшуюся смесь нагревали до 78°C и перемешивали на протяжении ночи. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и гидроксидом натрия и экстрагировали дихлорметаном (5×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в 10% растворе (2 М NH₃ в MeOH) в дихлорметане, получая при этом требуемый продукт (22 мг, 46%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,69 (д, J=3,3 Гц, 1H), 7,56 (д, J=5,1 Гц, 1H), 7,07 (т, J=4,4 Гц, 1H), 6,72 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,53-6,44 (м, 2H), 6,29 (ушир.с, 2H), 3,54-3,51 (м, 2H), 3,3 (м, 2H), 3,04-3,00 (м, 2H), 2,66 (т, J=6,8 Гц, 2H), 2,32 (с, 3H);

MS-EI: (m/z, %) 332 (M⁺, 75), 288 (97), 260 (100); EI-HRMS: вычислено для C₁₆H₂₀N₄S₂ (M⁺) 332,1129, найдено 332,1145; чистота по ВЭЖХ: 95% площади.

Пример 9: синтез N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамина (9)



N,N-Диметил-2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этанамин.

Раствор 6-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазина (1,0 г, 5,55 ммоль) в безводном ДМФА (25 мл) в атмосфере аргона охлаждали и обрабатывали порциями гидрида натрия (0,677 г, 16,93 ммоль) при 5-10°C. Порциями при 5-10°C добавляли гидрохлорид 2-хлор-N,N-диметиламина (1,599 г, 11,10 ммоль) и образовавшейся гетерогенной красно-коричневой смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры. Спустя 3 ч при комнатной температуре смесь нагревали до 90°C и перемешивали в течение 30 мин. Смесь охлаждали до комнатной температуры, гасили добавлением воды (25 мл) и разбавляли EtOAc. Добавляли небольшое количество 1н. NaOH для подщелачивания смеси до pH ~9-10. Органический слой отделяли и водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли (×2), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, получая при этом темно-красное масло. Вещество очищали на силикагеле, элюируя 5% раствором MeOH/CH₂Cl₂, получая при этом указанное в заголовке соединение в виде темного оранжево-красного масла (458 мг, 32,8%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,49-7,39 (м, 2H), 6,87-6,84 (м, 1H), 4,27-4,25 (м, 2H), 3,50-3,37 (м, 4H), 2,43 (т, 2H, J=6,7 Гц), 2,19 (с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 252 (MH⁺, 100).

4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-амин.

В высушенную в сушильном шкафу, продутую аргоном 100 мл круглодонную колбу, снабженную магнитным стержнем, добавляли N,N-диметил-2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этанамин (0,10 г, 0,398 ммоль) и EtOH (10 мл). В это время начинали перемешивали реакционной смеси. Добавляли 10% Pd-C (0,042 г, 0,040 ммоль), из колбы откачивали воздух и смесь подвергали гидрированию в стандартных условиях (атмосферное давление H₂, создаваемое с применением баллона). Спустя 3 ч смесь

фильтровали через подушку целита и промывали этанолом. Раствор бледно-персикового цвета, который темнел при воздействии воздуха, концентрировали приблизительно до 10 мл, получая при этом указанное в заголовке соединение. Это соединение применяли непосредственно на следующей стадии.

ESI-MC (m/z, %): 222 (MH⁺, 100).

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

К перемешиваемому раствору 4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-амин (0,088 г, 0,398 ммоль) в этаноле в атмосфере аргона добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,227 г, 0,795 ммоль). Образовавшуюся слабомутистую желтую смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Спустя 20 ч через смесь барботировали аргон и затем ее концентрировали, получая при этом остаток. Остаток затем распределяли между EtOAc (100 мл) и насыщенным раствором NaHCO₃ (~10 мл). Водный слой (pH~9) дополнительно экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, получая при этом желтый остаток. Очистка на силикагеле (сухая хроматография, элюирование 5-7,5% раствором (2 М NH₃ в MeOH)/CH₂Cl₂), получая при этом указанное в заголовке соединение 9 в виде желтого остатка (70 мг, 53,3%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,70 (д, 1H, J=2,7 Гц), 7,57 (д, 1H, J=5,0 Гц), 7,07 (дд, 1H, J=5,0, 3,7 Гц), 6,59 (д, 1H, J=8,2 Гц), 6,30 (ушир.с, 2H), 6,14 (с, 1H), 6,00 (д, 1H, J=8,1 Гц), 4,18-4,02 (м, 2H), 3,41-3,25 (м, 4H+H₂O), 2,41 (т, 2H, J=6,7 Гц), 2,17 (с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 331 (MH⁺, 100).

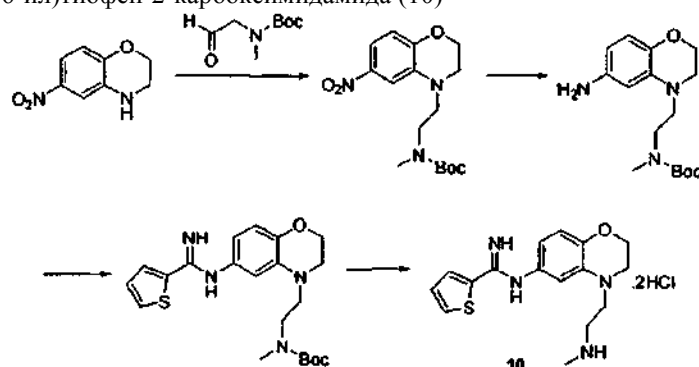
Дигидрохлорид N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (0,065 г, 0,197 ммоль) растворяли в безводном MeOH (5 мл) и обрабатывали хлоридом водорода (1 М раствор в диэтиловом простом эфире; 0,433 мл, 0,433 ммоль) в течение 5 мин при комнатной температуре. Реакционную смесь затем концентрировали, получая при этом указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (58,5 мг, 73,7%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 11,36 (ушир.с, 1H), 11,02 (ушир.с, 1H), 9,70 (ушир.с, 1H), 8,69 (ушир.с, 1H), 8,15 (видимый д, 2H, J=4,5 Гц), 7,37 (видимый т, 1H, J=4,3 Гц), 7,07 (с, 1H), 6,84 (д, 1H, J=8,3 Гц), 6,62 (д, 1H, J=8,4 Гц), 4,31-4,18 (м, 2H), 3,76-3,65 (м, 2H), 3,44-3,34 (м, 2H), 3,35-3,22 (м, 2H), 2,78, 2,77 (2×с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 331 (MH⁺, свободное основание, 100); ESI-HRMS: вычислено для C₁₇H₂₃N₄OS (MH⁺, свободное основание) 331,1587, найдено 331,1579.

Пример 10: синтез дигидрохлорида N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (10)



трет-Бутилметил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

В высушенную в сушильном шкафу, продутую аргоном колбу, снабженную магнитным стержнем, добавляли трет-бутилметил-(2-оксоэтил)карбамат (0,135 г, 0,777 ммоль) и DCE (10 мл). В это время начинали перемешивали и добавляли 6-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин (0,10 г, 0,555 ммоль) с последующим добавлением уксусной кислоты (0,064 мл, 1,110 ммоль) и триацетоксиборгидрид натрия (0,294 г, 1,388 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Спустя 18 ч реакционную смесь гасили добавлением насыщенного NaHCO₃ (10 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂. Водный слой экстрагировали дополнительно и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили (Na₂SO₄) и концентрировали. Сырой продукт объединяли с продуктом второй реакции (получен согласно вышеуказанной методике без применения уксусной кислоты). Объединенные продукты очищали на силикагеле, элюируя 50-70% раствором EtOAc/гексаны, получая при этом указанное в заголовке соединение в виде желтого остатка (130 мг, 34,7%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,58-7,37 (м, 2H), 6,92-6,80 (м, 1H), 4,25 (т, 2H, J=4,2 Гц), 3,58-3,36 (м, 6H), 2,87-2,74 (м, 3H), 1,27, 1,18 (2×с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 360 (MNa⁺, 100).

трет-Бутил-2-(6-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамат.

В высушенную в сушильном шкафу, продутую аргоном колбу, снабженную магнитным стержнем, добавляли трет-бутилметил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат (0,13 г, 0,385 ммоль), EtOH (10 мл). В это время начинали перемешивание. Добавляли 10% Pd-C (0,041 г, 0,039 ммоль), воздух из колбы откачивали и вещество подвергали гидрированию в стандартных условиях, как описано в контексте. Спустя 2,5 ч смесь фильтровали через подушку целита и промывали этанолом. Раствор бледно-персикового цвета, который медленно темнел при воздействии воздуха, концентрировали до объема ~10 мл, получая при этом указанное в заголовке соединение, которое применяли сразу на следующей стадии. Небольшую порцию концентрировали досуха для аналитических целей.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 6,34 (д, 1H, J=8,3 Гц), 6,03-5,95 (м, 1H), 5,75 (дд, 1H, J=8,3, 2,3 Гц), 4,35 (м, 2H), 3,98 (т, 2H, J=4,1 Гц), 3,30-3,15 (м, 6H), 2,81 (с, 3H), 1,38, 1,30 (2×с, 9H);

ESI-MS (*m/z*, %): 308 (MH⁺, 90), 252 (100).

трет-Бутилметил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]-оксазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил 2-(6-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамата (0,118 г, 0,384 ммоль) в этаноле в атмосфере аргона добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,219 г, 0,768 ммоль) и образовавшийся желтый раствор перемешивали при комнатной температуре. Спустя 44 ч через смесь барботировали аргон, смесь затем концентрировали до остатка и распределяли между EtOAc (100 мл) и насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл). Водный слой (pH ~9) дополнительно экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, получая при этом оранжевый остаток. Остаток очищали дважды на силикагеле, для первой очистки применяли 100% EtOAc в качестве элюента и для второй очистки применяли 5% раствор (2 М NH₃ в МЕОН) в CH₂Cl₂, получая при этом указанное в заголовке соединение в виде желтого твердого вещества (80 мг, 50,0%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,68 (д, 1H, J=2,9 Гц), 7,57 (д, 1H, J=5,0 Гц), 7,10-7,03 (м, 1H), 6,60 (д, 1H, J=8,1 Гц), 6,30 (м, 3H), 6,00 (дд, 1H, J=8,1, 1,6 Гц), 4,18-4,02 (м, 2H), 3,40-3,21 (м, 6H, сливается с пиком H₂O), 2,81 (с, 3H), 1,34, 1,29 (2×с, 9H);

ESI-MS (*m/z*, %): 417 (MH⁺, 100).

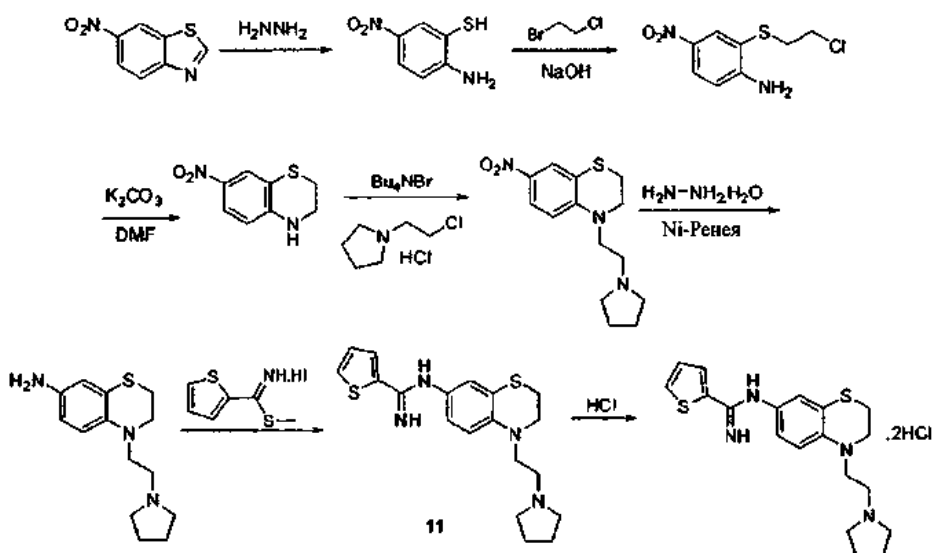
Дигидрохлорид N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамина.

К раствору трет-бутилметил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (0,07 г, 0,168 ммоль) в MeOH с чистотой по ВЭЖХ (10 мл) добавляли 3 М хлористоводородную кислоту (0,56 мл, 1,681 ммоль). Образовавшийся желтый раствор нагревали для кипячения с обратным холодильником в атмосфере аргона. Спустя 60 мин реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали. Остаток разбавляли H₂O (20 мл) и последовательно промывали CH₂Cl₂ (20 мл) и EtOAc (20 мл). Водный слой концентрировали и сушили, получая при этом указанное в заголовке соединение 10 в виде желтого твердого вещества (37 мг, 56,5%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 11,37 (ушир.с, 1H), 9,72 (ушир.с, 1H), 9,23 (ушир.с, 2H), 8,66 (ушир.с, 1H), 8,21-8,08 (м, 2H), 7,37 (видимый т, 1H, J=4,4 Гц), 7,03 (с, 1H), 6,84 (д, 1H, J=8,3 Гц), 6,60 (д, 1H, J=7,3 Гц), 4,31-4,20 (м, 2H), 3,70-3,45 (м, 2H, сливается с пиком H₂O), 3,40-3,34 (м, 2H), 3,18-3,02 (м, 2H), 2,60-2,50 (м, 3H);

ESI-MS (*m/z*, %): 317 (MH⁺, свободное основание, 100); ESI-HRMS: вычислено для C₁₆H₂₁N₄OS (MH⁺, свободное основание) 317,1430, найдено 317,1422.

Пример 11: синтез N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамина (11)



2-Амино-5-нитробензолтиол.

К суспензии 6-нитробензо[d]тиазола (5 г, 27,7 ммоль) в этаноле (45 мл) добавляли гидразингидрат (8,10 мл, 166 ммоль). Образовавшуюся смесь (темно-красную) перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем подкисляли медленным, осторожным добавлением 3 М HCl в воде (50 мл). Эту смесь далее разбавляли водой (50 мл) и образовавшийся желто-оранжевый осадок экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом оранжевое твердое вещество (4,62 г, 98%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ 8,12-8,09 (м, 1H), 7,88-7,85 (м, 1H), 6,75-6,71 (м, 1H), 6,28 (ушир.с, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 170 (MH^+ , 100).

2-(2-Хлорэтилтио)-4-нитроанилин.

К перемешиваемой суспензии 2-амино-5-нитробензолтиола (4,11 г, 24,15 ммоль) в этаноле (50 мл) и воде (10 мл) добавляли гидроксид натрия (0,966 г, 24,15 ммоль). К образовавшемуся раствору добавляли 1-бром-2-хлорэтан (8,04 мл, 97 ммоль) и образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом темно-желтое твердое вещество (5,13 г, 91%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ 8,16 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,97 (дд, $J=9,0$, 2,7 Гц, 1H), 6,94 (ушир.с, 2H), 6,79 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,68 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,11 (т, $J=7,2$ Гц, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 233 (MH^+ , 100), 216 (79).

7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

К перемешиваемому раствору 2-(2-хлорэтилтио)-4-нитроанилина (5,13 г, 22,05 ммоль) в ДМФА (70 мл) добавляли карбонат калия (9,14 г, 66,1 ммоль) с последующим добавлением иодида натрия (0,330 г, 2,205 ммоль). Образовавшуюся суспензию перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь затем разбавляли водой и образовавшиеся кристаллы собирали вакуумным фильтрованием, получая при этом требуемый продукт (4,06 г, 94%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ 7,81-7,73 (м, 3H), 6,58 (т, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,65-3,60 (м, 2H), 3,01-2,97 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 197 (MH^+ , 100), 180 (99).

7-Нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Смесь 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (1 г, 5,10 ммоль), гидрохлорида 1-(2-хлорэтил)пирролидина (1,734 г, 10,19 ммоль) и $n\text{Bu}_4\text{NBr}$ (0,082 г, 0,255 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) и 50% раствор NaOH (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Смесь разбавляли CH_2Cl_2 (25 мл) и водой (50 мл). Смесь переносили в делительную воронку и слои разделяли. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2×25 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Красное сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (CH_2Cl_2 , затем 1,75-5% раствор (2 М NH_3 в MeOH) в CH_2Cl_2), получая при этом 7-нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин в виде коричневого вязкого масла (0,63 г, 42%).

^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ 7,86-7,82 (м, 2H), 6,82 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,81 (т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,58 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,33 (с, 4H), 3,05 (т, $J=5,1$ Гц, 2H), 2,63 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,50 (с, 4H), 1,67 (с, 4H);

ESI-MS (m/z, %): 296, 294 (MH^+ , 100), 98 (13).

4-(2-(Пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин.

К раствору 7-нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (0,637 г, 2,172 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли никель Ренея (суспензия в воде) (~30 мг, 2,172 ммоль) с последующим добавлением гидразингидрата (1,056 мл, 21,72 ммоль) и смесь погружали в предварительно на-

гретую масляную баню и кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через подушку целита и промывали 100 мл MeOH. Сырое вещество фильтровали через слой диоксида кремния (3,5-10% раствор (2 М NH₃ в MeOH) в CH₂Cl₂). Растворитель выпаривали, получая при этом указанный в заголовке продукт в виде темно-коричневого масла (0,61 г, количественный выход).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 6,49 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,26-6,23 (м, 2H), 4,42 (ушир.с, 2H), 3,38-3,35 (м, 2H), 3,21 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,97-2,94 (м, 2H), 2,55 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,45 (ушир.с, 4H), 1,66 (ушир.с, 4H);

ESI-MS (m/z, %): 266, 264 (MH⁺, 100), 98 (34).

N-(4-(2-(Пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,239 г, 4,34 ммоль) добавляли к смеси 4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин (0,572 г, 2,172 ммоль) в EtOH (20 мл). Реакционную смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (30 мл). Смесь затем экстрагировали CH₂Cl₂ (50 мл) и водную фазу промывали CH₂Cl₂ (50 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na₂SO₄). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (CH₂Cl₂, затем 5% раствором (2 М NH₃ в MeOH)/CH₂Cl₂). Собранные фракции давали соединение 11 в виде бледно-коричневой вязкой жидкости (0,71 г, 88%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,69 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,56 (д, J=5,1 Гц, 1H), 7,08-7,06 (м, 1H), 6,67 (т, J=8,7 Гц, 1H), 6,50 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,46 (с, 1H), 6,32 (ушир.с, 2H), 3,57-3,53 (м, 2H), 3,39-3,34 (м, 2H), 3,03-3,00 (м, 2H), 2,60 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,50 (ушир.с, 4H), 1,68 (ушир.с, 4H);

ESI-MS (m/z, %): 375, 373 (MH⁺, 47), 278, 276 (100), 98 (21).

Дигидрохлорид N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

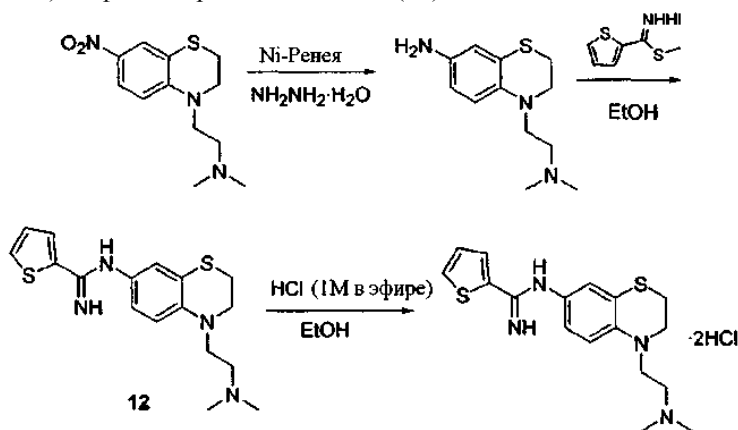
К перемешиваемому раствору N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,3524 г, 0,946 ммоль) в MeOH (2 мл) добавляли 1 М HCl в простом эфире (4,73 мл, 4,73 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 5 мин в атмосфере аргона и затем концентрировали, получая при этом желтую пену (0,646 г, количественный выход).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 11,51 (с, 1H), 11,23 (с, 1H), 9,68 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,15-8,11 (м, 2H), 7,37-7,34 (м, 1H), 7,08 (д, J=9,3 Гц, 1H), 7,00 (д, J=8,4 Гц, 1H), 3,81-3,76 (м, 2H), 3,66-3,64 (м, 2H), 3,56-3,46 (м, 2H), 3,33-3,30 (м, 2H), 3,13-3,10 (м, 2H), 3,06-3,00 (м, 2H), 2,00-1,86 (м, 4H);

ESI-MS (m/z, %): 375, 373 (MH⁺, свободное основание, 66), 278, 276 (100), 98 (21);

HRMS (C₁₉H₂₅N₄S₂, MH⁺, свободное основание): вычислено 373,1515, найдено 373,1518. Чистота по ВЭЖХ: 98% площади.

Пример 12: синтез дигидрохлорида N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (12)



N,N-Диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин.

Получен согласно методике, описанной в примере 8.

4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин.

Темную смесь N,N-диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамина (1,0 г, 3,74 ммоль) в метаноле (10 мл) в атмосфере аргона обрабатывали никелем Ренея (~0,22 г, 3,74 ммоль) и гидразингидратом (1,82 мл, 37,4 ммоль). Реакционную смесь переносили на предварительно нагретую до 65°C масляную баню. Спустя 50 мин смеси давали возможность охладиться до комнатной температуры и затем выливали на подушку целита. Подушку целита промывали метанолом (20 мл). Фильтрат концентрировали и сырое вещество подвергали хроматографии на короткой колонке силикагеля (раствор 1:9 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂). Образовавшийся коричневый остаток применяли на следующей стадии.

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 6,49 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,27-6,23 (м, 2H), 4,42 (ушир.с, 2H), 3,40-3,30 (м, 2H),

3,18 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,98-2,94 (м, 2H), 2,36 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,16 (с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 238 (MH⁺, 100), 193 (56), 147 (58).

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию 4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин (0,888 г, 3,74 ммоль) и гидроиодида метилтиофен-2-карбимидотиоата (2,134 г, 7,48 ммоль) в сухом этаноле (15 мл) перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч). Растворитель выпаривали и остаток распределяли между насыщенным раствором NaHCO₃ (50 мл) и CH₂Cl₂ (25 мл). После перемешивания в течение 20 мин смесь переносили в делительную воронку и органический слой удаляли. Водный слой экстрагировали CH₂Cl₂ (2×25 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали колоночной хроматографии с применением силикагеля (CH₂Cl₂, затем 5:95 смесь (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанный в заголовке продукт 12 в виде твердого вещества (0,44 г, 33,9%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 7,69 (д, J=3,3 Гц, 1H), 7,56 (д, J=5,1 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=4,8, 3,9 Гц, 1H), 6,66 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,52-6,46 (м, 2H), 6,32 (ушир.с, 2H), 3,56-3,52 (м, 2H), 3,36-3,32 (м, 2H), 3,03-3,00 (м, 2H), 2,41 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,19 (с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 347 (MH⁺, 100), 276 (84%).

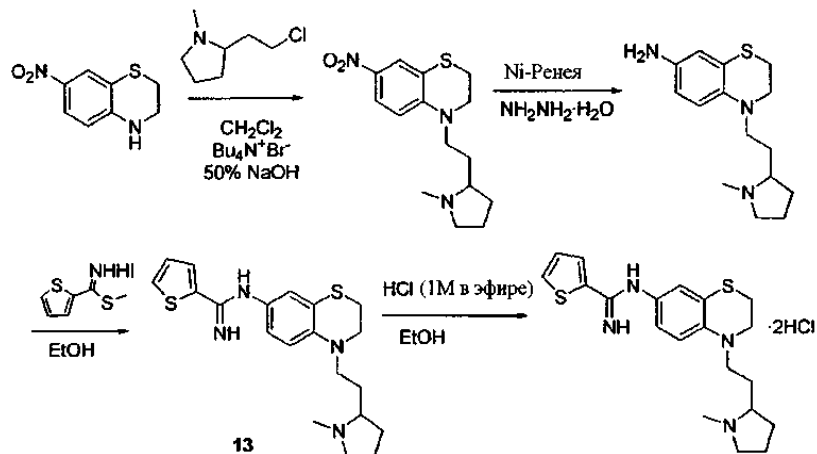
Дигидрохлорид N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

Раствор N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,44 г, 1,270 ммоль) в сухом этаноле (10 мл) обрабатывали хлористо-водородной кислотой (1 М в простом эфире, 6,35 мл, 6,35 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок отделяли и промывали эфиром, получая при этом желто-зеленый порошок. Порошок сушили при пониженном давлении (0,46 г, 86%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 11,25 (ушир.с, 2H), 9,69 (ушир.с, 1H), 8,69 (ушир.с, 1H), 8,15-8,13 (м, 2H), 7,37-7,37 (м, 1H), 7,07-7,01 (м, 3H), 3,82-3,77 (м, 2H), 3,70-3,60 (м, 2H), 3,25-3,21 (м, 2H), 3,15-3,10 (м, 2H), 2,80 (д, J=3,6 Гц, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 347 (MH⁺, свободное основание, 100); ESI-HRMS: вычислено для C₁₇H₂₃N₄S₂ (MH⁺, свободное основание): 347,1358, найдено 347,1343; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 13: синтез N-(4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (13)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получали согласно методике, описанной в примере 11.

4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Смесь 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (1 г, 5,10 ммоль), гидрохлорида 2-(2-хлорэтил)-1-метилпирролидина (1,876 г, 10,19 ммоль), и бромид тетрабутиламмония (0,082 г, 0,255 ммоль) в дихлорметане (10 мл) и 50% раствора NaOH (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч (на протяжении ночи). Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (5 мл) и водой (20 мл) и смесь переносили в делительную воронку. Органический слой удаляли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×10 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Красное сырое вещество подвергали колоночной хроматографии на силикагеле с применением системы очистки Biotage (колонка с 80 г кремнийсодержащего адсорбента; градиент: дихлорметан 3CV, затем изменение до смеси 6:94 (2 М NH₃ в метаноле):дихлорметан через 15CV; 254 нм; скорость потока: 45 мл/мин), получая при этом указанное в заголовке соединение в виде светло-оранжевого твердого вещества (0,827 г, 52,8%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 7,87 (дд, J=3,0, 9,0 Гц, 1H), 7,83 (д, J=3,0 Гц, 1H), 6,79 (д, J=9,3 Гц, 1H), 3,79-

3,76 (м, 2H), 3,46 (т, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,08-3,05 (м, 2H), 2,99-2,92 (м, 1H), 2,23 (с, 3H), 2,10-2,06 (м, 2H), 1,92-1,78 (м, 2H), 1,66-1,61 (м, 2H), 1,54-1,47 (м, 2H);

ESI-MS (m/z , %): 308 (MH^+ , 100).

4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-амин.

Раствор 4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазина (0,82 г, 2,67 ммоль) в метаноле (10 мл) в атмосфере аргона обрабатывали гидразингидратом (1,29 мл, 26,7 ммоль) и небольшим количеством никеля (~0,15 г, 2,67 ммоль). Реакционную смесь переносили на предварительно нагретую до 65°C масляную баню. Спустя 3 ч реакционную смесь выливали на подушку целита, промытую метанолом. Фильтрат концентрировали и остаток выливали на подушку силикагеля. Подушку силикагеля промывали смесью 1:9 (2 М NH_3 в метаноле):дихлорметан (200 мл). Фильтрат концентрировали, сушили при пониженном давлении и применяли на следующей стадии.

^1H ЯМР ($DMCO-d_6$) δ 6,48 (ушир.д, $J=9,3$ Гц, 1H), 6,27-6,24 (м, 2H), 4,42 (ушир.с, 2H), 3,33-3,29 (м, 2H), 3,13-3,06 (м, 2H), 2,99-2,96 (м, 2H), 2,96-2,90 (м, 1H), 2,19 (с, 3H), 2,06-1,97 (м, 2H), 1,96-1,78 (м, 2H), 1,63-1,60 (м, 2H), 1,56-1,40 (м, 2H);

ESI-MS (m/z , %): 278 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(1-Метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию 4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-амин (0,7 г, 2,52 ммоль) и гидроиодида метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,439 г, 5,05 ммоль) в сухом этаноле (15 мл) перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч) в атмосфере аргона. После этого времени растворитель выпаривали и остаток распределяли между насыщенным раствором $NaHCO_3$ (50 мл) и дихлорметаном (25 мл). Смесь переносили в делительную воронку и органический слой удаляли. Водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×25 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (последовательность элюентов: смесь 2:98 метанол:дихлорметан, 5:95 метанол:дихлорметан и 5:95 (2 М аммиак в метаноле):дихлорметан), получая при этом соединение 13 в виде желтого сиропа (0,48 г, 49%).

^1H ЯМР ($DMCO-d_6$) δ 7,69 (ушир.д, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,57 (ушир.д, $J=4,5$ Гц, 1H), 7,07 (дд, $J=3,9, 4,8$ Гц, 1H), 6,52 (дд, $J=1,8, 8,1$ Гц, 2H), 6,47 (ушир.д, $J=1,8$ Гц, 1H), 6,38 (ушир.с, 2H), 3,51-3,47 (м, 2H), 3,28-3,22 (м, 2H), 3,05-3,02 (м, 2H), 2,99-2,93 (м, 1H), 2,24 (с, 3H), 2,12-2,06 (м, 2H), 1,94-1,87 (м, 2H), 1,68-1,63 (м, 2H), 1,51-1,42 (м, 2H);

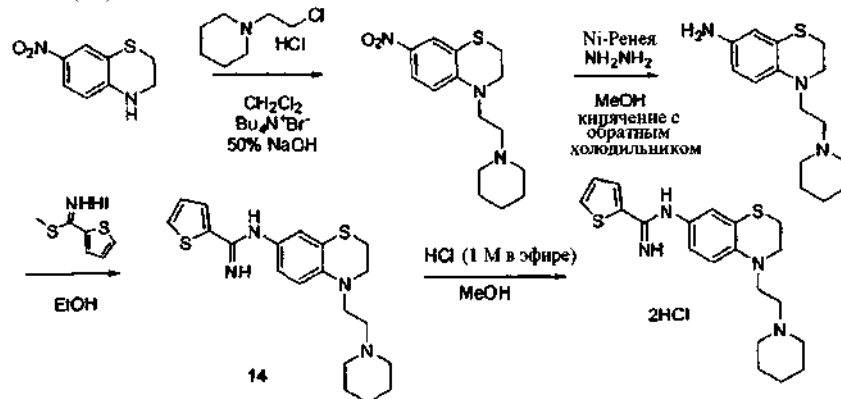
ESI-MS (m/z , %): 387 (MH^+ , 90), 276 (100), 194 (50).

Дигидрохлорид N-(4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида. Раствор N-(4-(2-(1-метилпирролидин-2-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,48 г, 1,242 ммоль) в сухом этаноле (10 мл) обрабатывали хлористо-водородной кислотой (1 М в эфире; 6,21 мл, 6,21 ммоль) и перемешивали в течение получаса. Осадок собирали и промывали простым эфиром. Осадок растворяли в метаноле и концентрировали, получая при этом желто-оранжевое кристаллическое вещество (0,57 г, 100%).

^1H ЯМР ($DMCO-d_6$) δ 11,22 (ушир.с, 1H), 11,17 (ушир.с, 1H), 9,68 (ушир.с, 1H), 8,72 (ушир.с, 1H), 8,15-8,13 (м, 2H), 7,37-7,34 (м, 1H), 7,05-6,99 (м, 2H), 6,91 (ушир.д, $J=8,7$ Гц, 1H), 3,66-3,64 (м, 2H), 3,55-3,41 (м, 3H), 3,38-3,22 (м, 1H), 3,12-3,09 (м, 2H), 3,00-2,97 (м, 1H), 2,76 (д, $J=4,8$ Гц, 3H), 2,32-2,18 (м, 2H), 1,99-1,86 (м, 3H), 1,77-1,71 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 387 (MH^+ , свободное основание, 100), 194 (19); ESI-HRMS: вычислено для $C_{20}H_{27}N_4S_2$ (MH^+ , свободное основание) 387,1671, найдено 387,1654; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 14: синтез N-(4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (14)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[*b*][1,4]тиазин.

Получен согласно способу, описанному в примере 11.

7-Нитро-4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин.

Смесь 7-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (1 г, 5,10 ммоль), гидрохлорида 1-(2-хлорэтил)пиперидина (1,876 г, 10,19 ммоль) и бромид тетрабутиламмония (0,082 г, 0,255 ммоль) в дихлорметане (10 мл) и 50% раствора NaOH (10 мл) перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч). Смесь разбавляли дихлорметаном (5 мл) и водой (20 мл) и смесь затем переносили в делительную воронку. Органический слой удаляли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×10 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Красное сырое вещество подвергали колоночной хроматографии на силикагеле с применением системы очистки Biotage (колонок с 80 г кремнийсодержащего адсорбента; градиент растворителя: дихлорметан 3CV, затем изменение до смеси 6:94 (2 М NH₃ в метаноле): дихлорметан на протяжении 15CV; мониторинг при длине волны 254 нм; скорость потока = 45 мл/минута), получая при этом оранжевое твердое вещество (0,937 г, 59,8%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,85-7,81 (м, 2H), 6,82 (д, J=9,0 Гц, 1H), 3,82-3,79 (м, 2H), 3,58 (т, J=6,9 Гц, 2H), 3,08-3,04 (м, 2H), 2,50-2,45 (м, 2H), 2,44-2,34 (м, 4H), 1,49-1,46 (м, 4H), 1,40-1,37 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 308 (MH⁺, 100).

4-(2-(Пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-амин.

Смесь 7-нитро-4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (0,9 г, 2,93 ммоль) в метаноле (10 мл) в атмосфере аргона обрабатывали сначала гидразингидратом (1,424 мл, 29,3 ммоль) и затем никелем Ренея (~0,172 г, 2,93 ммоль). Реакционную смесь переносили на предварительно нагретую до 65°C масляную баню. Спустя 1 ч реакционную смесь выливали на подушку целита. Подушку целита промывали метанолом (25 мл). Красный фильтрат концентрировали и подвергали хроматографии на короткой колонке с силикагелем (смесь 1:9 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂). Фракции концентрировали и остаток применяли на следующей стадии.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 6,49 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,26-6,23 (м, 2H), 4,41 (с, 2H), 3,38-3,35 (м, 2H), 3,20 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,98-2,94 (м, 2H), 2,40-2,34 (м, 6H), 1,50-1,46 (м, 14H), 1,38-1,36 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 278 (MH⁺, 100).

N-(4-(2-(Пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию 4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-амин (0,90 г, 3,24 ммоль) и гидроиодида метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,85 г, 6,49 ммоль) перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч) в атмосфере аргона. Реакционную смесь концентрировали и остаток распределяли между насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл) и дихлорметаном (25 мл). После перемешивания в течение 1 ч смесь выливали в делительную воронку. Органический слой удаляли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (2×20 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (смесь от 2:98 до 5:95 MeOH:CH₂Cl₂, затем 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанное в заголовке соединение 14 в виде желтого твердого вещества (0,288 г, 23%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,69 (д, J=3,3 Гц, 1H), 7,57 (д, J=4,5 Гц, 1H), 7,09-7,06 (м, 1H), 6,67 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,52-6,47 (м, 2H), 6,39 (ушир.с, 2H), 3,56-3,53 (м, 2H), 3,39-3,33 (м, 2H), 3,03-3,01 (м, 2H), 2,45-2,39 (м, 6H), 1,49-1,48 (м, 4H), 1,39-1,38 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 387 (MH⁺, 77), 276 (46), 194 (100).

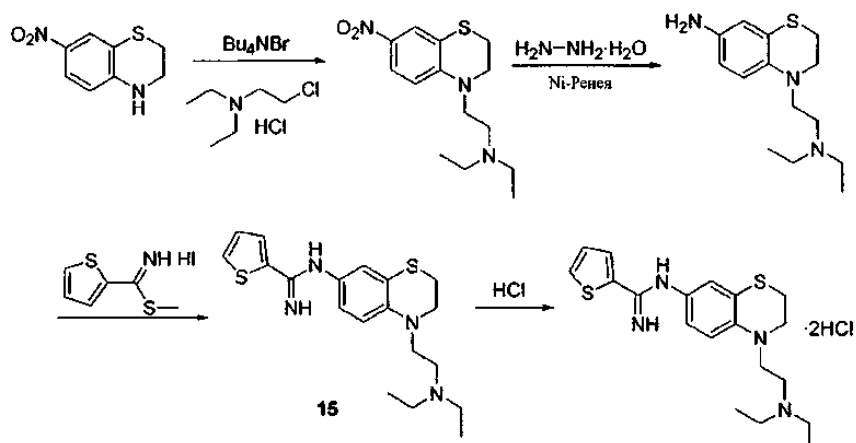
Дигидрохлорид N-(4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

Раствор N-(4-(2-(пиперидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,288 г, 0,745 ммоль) в безводном метаноле (8 мл) обрабатывали хлористоводородной кислотой (1 М в простом эфире; 3,72 мл, 3,72 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч и затем концентрировали, получая при этом оранжевое твердое вещество (0,34 г, 99%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 11,21 (ушир.с, 1H), 11,16 (ушир.с, 1H), 9,67 (ушир.с, 1H), 8,69 (ушир.с, 1H), 8,15 (ушир.д, J=4,8 Гц, 1H), 8,11 (ушир.д, J=3,0 Гц, 1H), 7,38-7,35 (м, 1H), 7,11-6,98 (м, 3H), 3,89-3,84 (м, 2H), 3,68-3,64 (м, 2H), 3,45-3,42 (м, 2H), 3,22-3,15 (м, 2H), 3,12-3,09 (м, 2H), 2,89-2,88 (м, 2H), 1,87-1,71 (м, 5H), 1,42-1,38 (м, 1H);

ESI-MS (m/z, %): 387 (MH⁺, свободное основание, 100), 194 (23); ESI-HRMS: вычислено для C₂₀H₂₇N₄S₂ (MH⁺, свободное основание) 387,1671, найдено 337,1657; чистота по ВЭЖХ 99% площади.

Пример 15: синтез N-(4-(2-(диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (15)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 11.

N,N-Диэтил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин.

Смесь 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (1 г, 5,10 ммоль), гидрохлорида 2-хлор-N,N-диэтилэтанамин (1,754 г, 10,19 ммоль) и $n\text{Bu}_4\text{NBr}$ (0,082 г, 0,255 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) и воде (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Смесь разбавляли CH_2Cl_2 (5 мл) и водой (20 мл). Смесь переносили в делительную воронку и слои разделяли. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2×10 мл). Объединенные органические слои сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Красное сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (CH_2Cl_2 , затем смесь 1,75-3,5% (2 M NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом коричневое масло (1,15 г, 77%).

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7,86-7,81 (м, 2H), 6,81 (д, $J=9$ Гц, 1H), 3,85-3,82 (м, 2H), 3,53 (т, $J=6$, 6 Гц, 2H), 3,07-3,04 (м, 2H), 2,58 (т, $J=6,3$ Гц, 2H), 2,52-2,45 (м, 4H), 0,92 (т, $J=7,2$ Гц, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 298, 296 (MH^+ , 100).

4-(2-(Диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин.

К перемешиваемому раствору N,N-диэтил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин (1,109 г, 3,76 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли никель Ренея (суспензия в воде; ~0,1 г, 3,76 ммоль), затем гидразингидрат (1,828 мл, 37,6 ммоль). Смесь погружали в предварительно нагретую масляную баню и кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин. Раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и промывали посредством MeOH . Сырое вещество фильтровали через слой диоксида кремния (3,5% раствор (2 M NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2). Растворитель выпаривали, получая при этом продукт в виде темно-коричневого масла (1,07 г, количественный выход).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 6,58 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,45 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 6,40 (дд, $J=2,7$, 8,7 Гц, 1H), 3,53-3,50 (м, 2H), 3,30 (м, 4H), 3,03-2,99 (м, 2H), 1,03 (т, $J=7,2$ Гц, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 268, 266 (MH^+ , 100), 100 (52).

N-(4-(2-(Диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаид.

Гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (2,266 г, 7,94 ммоль) добавляли к смеси 4-(2-(диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин (1,054 г, 3,97 ммоль) в EtOH (20 мл). Смесь перемешивали в течение 2 дней при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (30 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (50 мл). Водную фазу промывали CH_2Cl_2 (50 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na_2SO_4). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (CH_2Cl_2 , затем 3,5% раствор (2 M NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2). Собранные фракции концентрировали и образец снова подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (2,5% раствор MeOH : CH_2Cl_2). Собранные фракции концентрировали, получая при этом соединение 15 в виде коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,40-7,36 (м, 2H), 7,05 (дд, $J=3,9$, 4,8 Гц, 1H), 6,73 (м, 3H), 3,65-3,61 (м, 1H), 3,39 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,05-3,02 (м, 2H), 2,67-2,54 (м, 6H), 1,04 (т, $J=7,2$ Гц, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 377, 375 (MH^+ , 35), 278, 276 (100).

Дигидрохлорид N-(4-(2-(диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаида.

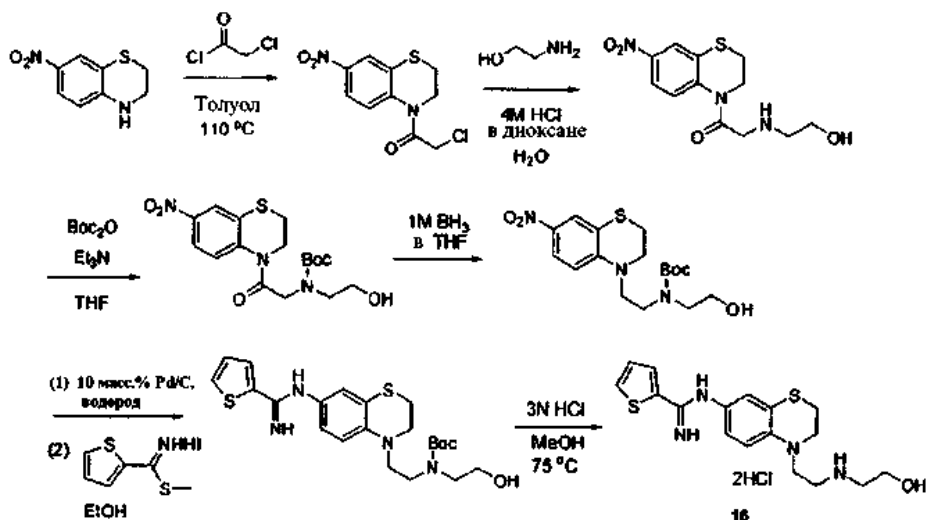
К перемешиваемому раствору N-(4-(2-(диэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбосимидаида (1,149 г, 3,07 ммоль) в MeOH (5 мл) добавляли 1 M HCl в простом эфире (15,35 мл, 15,35 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 5 мин в атмосфере аргона и концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество (1,37 г, количественный выход).

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,24 (с, 2H), 9,68 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,15-8,13 (м, 2H), 7,37-7,34 (м, 1H), 7,12-7,00 (м, 3H), 3,88-3,83 (м, 2H), 3,69-3,66 (м, 2H), 3,17-3,10 (м, 8H), 1,25 (т, $J=7,2$ Гц, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 377, 375 (MH^+ , свободное основание, 58), 278, 276 (100); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+ , свободное основание) 375,1671, найдено 375,1667; чистота по ВЭЖХ: 95% площа-

ди.

Пример 16: синтез дигидрохлорида N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (16)



7-Нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 11.

2-Хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанон.

2-Хлорацетилхлорид (4,08 мл, 50,9 ммоль) по каплям добавляли к раствору, содержащему 7-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин (5 г, 25,5 ммоль) в толуоле (30 мл). Смесь кипятили с обратным холодильником при 110°C в течение 20 мин. Смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (100 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали EtOAc (4×100 мл). Сырое вещество фильтровали через подушку силикагеля и промывали EtOAc. Фильтрат концентрировали, получая при этом желто-коричневое твердое вещество.

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,12 (д, J=2,7 Гц, 1H), 7,94 (дд, J=2,7, 9,0 Гц, 1H), 7,72 (д, J=9,0 Гц, 1H), 4,63 (с, 2H), 3,96 (т, J=5,1 Гц, 2H), 3,32 (т, J=5,4 Гц, 2H, перекрытый с растворителем пик);

ESI-MS (m/z, %): 273 (MH⁺, 100), 295 (40).

2-(2-Гидроксиэтиламино)-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанон.

Раствор 2-хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанона (1,0 г, 3,67 ммоль) в ТГФ (20 мл) обрабатывали 4 М HCl в 1,4-диоксане (4,58 мл, 18,33 ммоль) с последующим медленным добавлением раствора 2-аминоэтанола (2,207 мл, 36,7 ммоль) в воде (4 мл). Темный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и насыщенным бикарбонатом натрия (100 мл), затем перемешивали в течение 20 мин. Содержимое выливали в делительную воронку и органический слой отделяли, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, получая при этом темно-желтый остаток. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 5:95 MeOH:CH₂Cl₂, затем 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂, получая при этом желтый остаток (320 мг, 29,4%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 8,14 (д, J=2,7 Гц, 1H), 7,95 (дд, J=2,7, 9,0 Гц, 1H), 7,37 (д, J=9,0 Гц, 1H), 4,02 (т, J=5,1 Гц, 2H), 3,61 (т, J=5,1 Гц, 2H), 3,57 (с, 2H), 3,28 (т, J=5,4 Гц, 2H), 2,77 (т, J=4,8 Гц, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 298 (MH⁺, 100%).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

Раствор 2-(2-гидроксиэтиламино)-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанона (300 мг, 1,009 ммоль) в ТГФ (15 мл) обрабатывали Вос-ангидридом (231 мг, 1,059 ммоль) с последующим добавлением триэтиламина (0,422 мл, 3,03 ммоль). Желтый раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч (на протяжении ночи). Раствор разбавляли EtOAc (20 мл) и обрабатывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (20 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали. После экстракции органический слой отделяли, сушили (Na₂SO₄) и фильтровали через слой силикагеля. Слой промывали EtOAc (10 мл) и фильтрат концентрировали, получая при этом желтый остаток. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле с применением системы для очистки Biotage (колонка: 40 г кремнийсодержащего адсорбента; градиент от 30% EtOAc/70% гексанов до 90% EtOAc/10% гексанов при пропускании смеси в количестве 10 объемов колонки; скорость потока = 35 мл/мин; длина волны при сборе 254 нм). После сушки при пониженном давлении получали желтый осадок (270 мг, 67,3%).

¹H ЯМР (CDCl₃) (смесь ротамеров) δ 8,15 (дд, J=2,7, 8,1 Гц, 1H), 7,94 (дд, J=2,4, 8,7 Гц, 1H), 7,58 и 7,31 (2×д, J=9,0 Гц, 1H), 4,41 (ушир.с, 1H), 4,12-3,88 (м, 4H), 3,82-3,66 (м, 2H), 3,48 and 3,11 (2×т, J=4,5 Гц, 2H), 3,29 (т, J=4,5 Гц, 2H), 1,46 и 1,40 (2×с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 420 (M+Na, 70), 398 (MH⁺, 40), 298 (100).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

Раствор трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (250 мг, 0,629 ммоль) в ТГФ (10 мл) охлаждали до 0°C, затем обрабатывали бораном в ТГФ (1 М) (6,29 мл, 6,29 ммоль). Образовавшемуся ярко-желтому раствору давали возможность нагреться до комнатной температуры и затем перемешивали при такой температуре в течение 2,5 ч. Смесь охлаждали до 0°C и реакционную смесь затем осторожно гасили MeOH (сначала добавление по каплям; всего 20 мл). Охлаждающую баню удаляли и желтый раствор перемешивали в течение 20 мин, затем концентрировали. Оранжевый остаток растворяли в MeOH (50 мл) и концентрировали досуха. Этот остаток растворяли в EtOAc (20 мл) и фильтровали через подушку силикагеля. Подушку силикагеля промывали EtOAc (100 мл). Фильтрат концентрировали, получая при этом оранжевый остаток, который сушили при пониженном давлении в течение 4 ч (230 мг, 95%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,97 (ушир.с, 1H), 7,87 (ушир.д, J=8,7 Гц, 1H), 6,85-6,71 (м, 1H), 3,81 (ушир.с, 5H), 3,61 (ушир.с, 2H), 4,54-3,31 (м, 4H), 3,02 (перекр.видимый т, 2H), 1,47 (ушир.с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 406 (M+Na, 60), 384 (MH⁺, 10), 328 (60), 284 (100).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

В круглодонную колбу, содержащую трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат (220 мг, 0,574 ммоль), в атмосфере аргона загружали палладий на активированном угле (10 мас.%; 61,0 мг, 0,057 ммоль). Смесь продували аргоном перед добавлением EtOH (20 мл). Из образовавшейся суспензии откачивали воздух при помощи насоса и в систему при помощи баллона вводили водород. Смесь перемешивали в атмосфере водорода, подаваемого из баллона, в течение 3 ч. Баллон с водородом убирали и к реакционной смеси добавляли гидроиодид метилтиофен-2-карбимидотиоата (327 мг, 1,147 ммоль). Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч (на протяжении ночи). После этого времени смесь фильтровали через подушку целита, которую затем промывали MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали и остаток распределяли между насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл) и CH₂Cl₂ (100 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали. После экстракции органический слой отделяли, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали, получая при этом темный остаток. Этот остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2:98 MeOH/CH₂Cl₂, затем 3,5:96,2 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂, получая при этом желтое твердое вещество (140 мг, 52,7%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 7,69 (ушир.д, J=3,0 Гц, 1H), 7,57 (д, J=5,1 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=3,9, 4,8 Гц, 1H), 6,82-6,75 (м, 1H), 6,53-6,42 (м, 2H), 6,32 (ушир.с, 2H), 4,73 (т, J=5,4 Гц, 1H), 3,54 (ушир.с, 2H), 3,50-3,42 (м, 2H), 3,38 (ушир.с, 4H, перекрытый с растворителем пик), 3,27-3,19 (м, 2H), 3,08-2,96 (м, 2H), 1,41 (ушир.с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 463 (MH⁺, 100), 398 (60); чистота по ВЭЖХ: 96,4% площади.

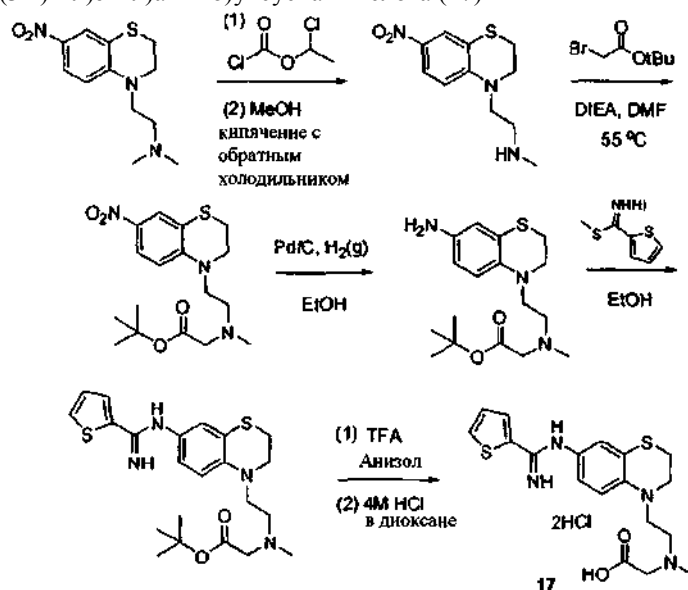
Дигидрохлорид N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

К раствору трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамино)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (130 мг, 0,281 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли 3н. HCl (2,81 мл, 8,43 ммоль). Желтый раствор нагревали при 75°C в течение 30 мин. После этого времени реакционную смесь фильтровали и концентрировали до половины ее объема. Желтый раствор затем экстрагировали 2×50 мл CH₂Cl₂ и водный слой концентрировали досуха, получая при этом желтый остаток. Этот остаток сушили при пониженном (высокий вакуум) давлении, получая при этом соединение 16 в виде желтого продукта.

¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,98-7,94 (м, 2H), 7,29 (псевдо т, J=4,2 Гц, 1H), 7,04-6,94 (м, 3H), 3,79 (ушир.т, J=4,8 Гц, 2H), 3,72-3,65 (м, 4H), 3,28 (ушир.с, 2H), 3,16 (ушмр.т, J=5,1 Гц, 2H), 3,09-3,06 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 363 (MH⁺, свободное основание, 100), 276 (90); ESI-HRMS: вычислено для C₁₇H₂₃N₄O₁S₂ (MH⁺, свободное основание): 363,1307, найдено 363,1316; чистота по ВЭЖХ 96,2% площади.

Пример 17: синтез дигидрохлорида 2-(метил-2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)уксусная кислота (17)



N,N-Диметил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин.

Получали согласно методике, описанной в примере 8.

N-Метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин.

Раствор N,N-диметил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамина (1,65 г, 6,17 ммоль) в $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (20 мл) охлаждали до 0°C (баня лед/вода), затем обрабатывали по каплям альфа-хлорэтилхлорформиадом (1,009 мл, 9,26 ммоль). Образовавшуюся суспензию нагревали при 88°C в течение 1,5 ч, затем концентрировали досуха. Остаток растворяли в MeOH (50 мл) и нагревали при кипячении с обратным холодильником в течение 2 ч. Темную смесь концентрировали и распределяли между насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл) и CH_2Cl_2 (200 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали. После экстракции органический слой отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали до получения коричневого остатка. Этот остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 в качестве элюента, получая при этом желтый остаток (980 мг, 62,7%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,97 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,87 (д, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 6,68 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 3,86-3,82 (м, 2H), 3,55 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,04-3,01 (м, 2H), 2,87 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 2,49 (с, 3H), 1,32 (ушир.с, 1H).

трет-Бутил-2-(метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)ацетат.

Раствор N-метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамина (0,95 г, 3,75 ммоль), диизопропилэтиламина (1,960 мл, 11,25 ммоль) и трет-бутилбромацетата в ДМФА (20 мл) нагревали при 55°C в течение 17 ч (на протяжении ночи). Желтый раствор разбавляли насыщенным раствором соли (40 мл) и экстрагировали EtOAc (100 мл). Органический экстракт отделяли и промывали насыщенным раствором соли (20 мл). Органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали, получая при этом желтый остаток. Этот остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2,5:97,5 MeOH: CH_2Cl_2 , получая при этом желто-коричневый остаток. Собирали две фракции, причем последняя имела неполярное желтое пятно (950 мг, 68,9%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,96 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,88 (д, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 6,65 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 3,88-3,83 (м, 2H), 3,55 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,20 (с, 2H), 3,02-2,99 (м, 2H), 2,76 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,44 (с, 3H), 1,46 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 368 (MH^+ , 20), 312 (100).

трет-Бутил-2-((2-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)(метил)амино)ацетат.

Круглодонную колбу, содержащую трет-бутил-2-(метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)ацетат (925 мг, 2,52 ммоль) продували аргоном и затем в нее загружали палладий-на-угле (10 мас.%); 268 мг, 0,252 ммоль). К этой смеси добавляли EtOH (40 мл). Из образовавшейся суспензии выкачивали воздух с применением насоса и в систему вводили водород при помощи баллона. Смесь перемешивали в атмосфере водорода, подаваемого из баллона в течение 3 ч. Баллон убрали и через суспензию барботировали аргон в течение 10 мин. Смесь фильтровали через подушку целита и подушку целита промывали метанолом (20 мл). Фильтрат концентрировали и остаток сушили при пониженном давлении, получая при этом указанное в заголовке соединение (850 мг, количественный выход).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 6,59 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,45 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,40 (дд, $J=2,7$, 8,4 Гц, 1H), 3,54-3,45 (м, 2H), 3,33 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,27 (ушир.с, 2H), 3,20 (с, 2H), 3,04-2,98 (м, 2H), 2,71 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,42 (с, 3H), 1,46 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 338 (MH^+ , 95), 282 (100).

трет-Бутил-2-(метил(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)ацетат.

К раствору ((2-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)(метил)амино)ацетата (850 мг, 2,52 ммоль) в EtOH (25 мл) добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,43 г, 5,04 ммоль). Образовавшуюся суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч (на протяжении ночи), после этого времени суспензию разбавляли 20 мл CH_2Cl_2 с получением темно-желтого раствора. Затем через данный раствор в течение 30 мин барботировали аргон. Раствор переносили в делительную воронку, содержащую насыщенный раствор бикарбоната натрия (50 мл) и CH_2Cl_2 (100 мл), затем экстрагировали. После экстракции органический слой отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали, получая при этом темный остаток. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2:98 MeOH: CH_2Cl_2 , затем смеси 2,5:97,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 с получением желто-зеленого остатка (420 мг, 37,3%). Собирали некоторое количество нечистых фракций (~340 мг).

^1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 7,43-7,35 (м, 2H), 7,06 (псевдо т, $J=4,8$ Гц, 1H), 7,71 (ушир.д, $J=8,1$ Гц, 2H), 6,65 (дд, $J=1,8, 8,4$ Гц, 1H), 4,91 (ушир.с, 2H), 3,66-3,58 (м, 2H), 3,43 (т, $J=7,2$ Гц, 2H), 3,21 (с, 2H), 3,07-2,99 (м, 2H), 2,74 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,45 (с, 3H), 1,47 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 447 (MH^+ , 100), 391 (50); чистота по ВЭЖХ: 99,7% площади.

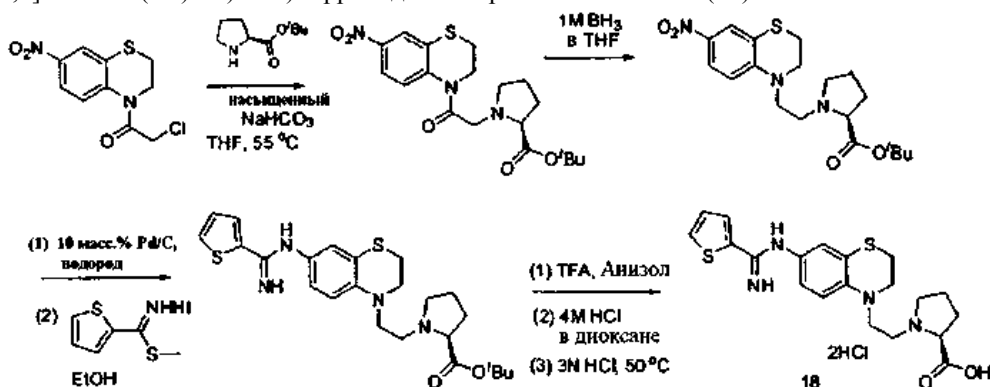
Дигидрохлорид 2-(метил(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)уксусной кислоты. В высушенную в сушильном шкафу круглодонную колбу, снабженную магнитным стержнем, в атмосфере аргона загружали трет-бутил-2-(метил(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)амино)ацетат (200 мг, 0,448 ммоль) в CH_2Cl_2 (3 мл) и раствор охлаждали до 0°C (баня лед/вода). К этому раствору добавляли анизол (0,098 мл, 0,896 ммоль) с последующим добавлением по каплям трифторуксусной кислоты (2,92 мл, 26,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 20 мин. Ледяную баню затем удаляли и смесь перемешивали в течение 3 дополнительных часов. После этого времени смесь концентрировали и обрабатывали 4,0 М HCl в 1,4-диоксане (4 мл). Образовавшуюся суспензию разбавляли Et_2O (20 мл) и затем перемешивали в течение 20 мин. Смесь фильтровали и твердое вещество промывали Et_2O (20 мл). Твердое вещество сушили при пониженном давлении, получая при этом соединение 17 в виде светло-желтого порошка (200 мг, 96%). Анализ ВЭЖХ показал, что образец содержал ~3,4% исходного вещества.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,99 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,97 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 7,31 (псевдо т, $J=4,5$ Гц, 1H), 7,11-6,99 (м, 2H), 6,95 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 4,16 (с, 2H), 3,81 (ушир.т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,68 (ушир.т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,52-3,39 (м, 2H), 3,10 (ушир.т, $J=4,8$ Гц, 2H), 3,03 (с, 3H);

ESI-MS (анализ по положительным ионам): 391 (MH^+ , свободное основание, 100);

ESI-MS (анализ по отрицательным ионам): 389 ($M-1$, свободное основание, 100); ESI-HRMS: вычислено для $C_{18}H_{23}N_4O_2S_2$ (MH^+ , свободное основание): 391,1256, найдено: 391,1255; чистота по ВЭЖХ: 96,64% площади.

Пример 18: синтез дигидрохлорида (S)-1-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (18)



2-Хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанол.

Получен согласно методике, описанной в примере 16.

(S)-трет-Бутил-1-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)пирролидин-2-карбоксилат.

Раствор 2-хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (1,0 г, 3,67 ммоль) в ТГФ (20 мл) обрабатывали (S)-трет-бутилпирролидин-2-карбоксилатом (0,942 г, 5,50 ммоль) с последующей обработкой насыщенным бикарбонатом натрия (4 мл). Смесь нагревали при 55°C в течение 3 ч, затем перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (17 ч). Смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и насыщенным бикарбонатом натрия (10 мл), затем перемешивали в течение 20 мин. Содержимое выливали в делительную воронку и органическую фазу отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентри-

ровали, получая при этом темно-желтый остаток. Данный остаток подвергали хроматографии на силикагеле с применением системы очистки Biotage (колонка: 40 г кремнийсодержащего адсорбента; градиент от смеси 20:80 EtOAc/гексаны до 60:40 EtOAc/гексаны при пропускании смеси в количестве 8 объемов колонки; скорость потока: 35 мл/мин; длина волны при сборе 254 нм). Получали желтый остаток (1,47 г, 98%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 8,09 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,91 (дд, $J=2,4$, 8,7 Гц, 1H), 7,75 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,10 (ушир.с, 2H), 3,74 (ушир.д, $J=13,2$ Гц, 1H), 3,40 (ушир.д, $J=13,5$ Гц, 1H), 3,37-3,21 (м, 3H), 3,12-3,04 (м, 1H), 2,61 (ушир.дд, $J=8,1$, 16,2 Гц, 1H), 2,21-2,07 (м, 1H), 1,95-1,77 (м, 3H), 1,43 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 408 (MH^+ , 50), 352 (100).

(S)-трет-Бутил-1-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)пирролидин-2-карбоксилат.

1 М боран в ТГФ (17,18 мл, 17,18 ммоль) добавляли к (S)-трет-бутил-1-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)пирролидин-2-карбоксилату (1,4 г, 3,44 ммоль) и образовавшийся желтый раствор перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (17 ч). Желтый раствор охлаждали до 0°C и осторожно гасили MeOH (10 мл). Раствор концентрировали, растворяли в MeOH (50 мл) и снова концентрировали, получая при этом темно-желтый остаток. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле с применением системы очистки Biotage (колонка: 80 г кремнийсодержащего адсорбента; градиент от смеси 20:80 EtOAc/гексаны до 60:40 EtOAc/гексаны при пропускании смеси в количестве 10 объемов колонки; скорость потока = 45 мл/мин; длина волны при сборе 254 нм). Получали желтый остаток (550 мг, 40,7%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,96 (д, $J=2,7$ Гц, 1H), 7,87 (дд, $J=2,7$, 9,3 Гц, 1H), 6,68 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 3,86-3,82 (м, 2H), 3,57 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 3,24-3,10 (м, 2H), 3,05-2,96 (м, 3H), 2,75-2,63 (м, 1H), 2,52-2,41 (м, 1H), 2,15-2,04 (м, 1H), 1,97-1,78 (м, 3H), 1,44 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 394 (MH^+ , 25), 338 (100).

(S)-трет-Бутил-1-(2-(7-тиофен-2-карбоксимидамо-2H-бензо[1][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)пирролидин-2-карбоксилат.

Круглодонную колбу, содержащую (S)-трет-бутил-1-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)пирролидин-2-карбоксилат (525 мг, 1,334 ммоль) продували аргоном. В данную колбу загружали палладий на активированном угле (10 мас.%; 142 мг, 0,133 ммоль) с последующим добавлением EtOH (25 мл). Из образовавшейся суспензии выкачивали газ с применением насоса и в систему вводили водород при помощи баллона. Смесь перемешивали в атмосфере водорода, подаваемого из баллона, в течение 2 ч. После этого времени баллон с водородом удаляли и к смеси добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (761 мг, 2,67 ммоль). Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч (на протяжении ночи). В это время смесь фильтровали через подушку целита и подушку промывали MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали и остаток распределяли между насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл) и CH_2Cl_2 (100 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали. После экстракции органический слой отделяли, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали, получая при этом темный остаток. Остаток подвергали флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси 2:98 MeOH: CH_2Cl_2 , затем смеси 3,5:96,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 с получением желто-зеленого остатка (398 мг, 63,1%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,39 (дд, $J=1,2$, 5,1 Гц, 1H), 7,37 (дд, $J=1,2$, 3,9 Гц, 1H), 7,05 (дд, $J=3,6$, 4,8 Гц, 1H), 6,73 (ушир.д, $J=5,1$ Гц, 1H), 6,71 (ушир.с, 1H), 6,65 (дд, $J=2,1$, 8,7 Гц, 1H), 4,86 (ушир.с, 2H), 3,63-3,60 (м, 2H), 3,44 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,11 (ушир.дд, $J=5,4$, 8,4 Гц, 1H), 3,04-2,94 (м, 3H), 2,71-2,59 (м, 1H), 2,45 (ушир.дд, $J=7,8$, 16,2 Гц, 1H), 2,13-1,99 (м, 1H), 1,97-1,74 (м, 3H), 1,45 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 473 (MH^+ , 90), 417 (85), 276 (100); чистота по ВЭЖХ 99,6% площади.

Дигидрохлорид (S)-1-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)пирролидин-2-карбоновой кислоты.

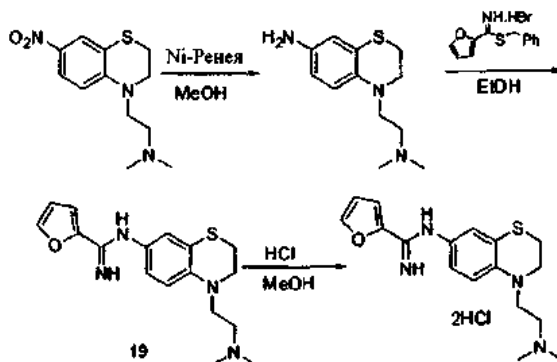
Раствор (S)-трет-бутил-1-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)пирролидин-2-карбоксилата (200 мг, 0,423 ммоль) в CH_2Cl_2 (5 мл) обрабатывали анизолом (0,092 мл, 0,846 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до 0°C и затем добавляли трифторуксусную кислоту (2,76 мл, 2,54 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч, затем концентрировали досуха. К данному остатку добавляли 4 М HCl в диоксане (3,17 мл, 12,69 ммоль) и образовавшуюся суспензию перемешивали в течение 20 мин. Данную смесь разбавляли Et_2O (10 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Твердое вещество отделяли фильтрованием, промывали Et_2O (10 мл) и затем сушили при пониженном давлении. Твердое вещество растворяли в 3н. HCl (4,0 мл, 12,00 ммоль) и нагревали при 50°C в течение 1 ч. Желтый раствор концентрировали и сушили при пониженном давлении, получая при этом соединение 18 в виде желтого твердого вещества (200 мг, 97%).

^1H ЯМР (CD_3OD) δ 7,98-7,94 (м, 2H), 7,28 (дд, $J=4,2$, 4,8 Гц, 1H), 7,05-7,01 (м, 2H), 6,92 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 4,42 (дд, $J=7,8$, 9,0 Гц, 1H), 3,85-3,56 (м, 6H), 3,48-3,29 (м, 2H), 3,13-3,03 (м, 2H), 2,62-2,47 (м, 1H), 2,26-2,10 (м, 2H), 2,08-1,92 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 417 (MH^+ , свободное основание, 100); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (MH^+ , свободное основание) 417,1419, найдено 417,1399; чистота по ВЭЖХ: 99,5% площади; оптическое

вращение: $^{25}[\alpha]_{589} = -27,0^\circ$, $c=0,52$ в MeOH.

Пример 19: синтез N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимидамида (19)



N,N-Диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин.

Получен согласно методике, описанной в примере 8.

4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин.

К раствору N,N-диметил-2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин (0,9695 г, 3,63 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли никель Ренея (суспензия в воде; ~0,1 г, 3,63 ммоль), затем гидразингидрат (1,82 мл, 37,4 ммоль). Смесь погружали в предварительно нагретую масляную баню и кипятили с обратным холодильником в течение 20 мин. Раствор охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через подушку целита. Подушку для фильтрования промывали MeOH и сырое вещество концентрировали. Сырое вещество фильтровали через слой силикагеля (2,5:97,5 (2 М NH₃ в MeOH): (CH₂Cl₂)). Собранные фракции давали коричневое вязкое масло (0,84 г, 99%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 6,58 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,45 (д, J=2,7 Гц, 1H), 6,40 (дд, J=2,7, 8,7 Гц, 1H), 3,51-3,48 (м, 2H), 3,30 (т, J=7,2 Гц, 2H), 3,03-3,00 (м, 2H), 2,48 (т, J=7,5 Гц, 2H), 2,27 (с, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 240, 238 (MH⁺, 100).

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимид.

Гидробромид бензилфуран-2-карбимидотиоата (1,139 г, 3,82 ммоль) добавляли к смеси 4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-амина (0,829 г, 3,49 ммоль) в EtOH (20 мл). Смесь перемешивали в течение 2 дней в атмосфере аргона. Раствор гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл). Раствор переносили в делительную воронку, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂ (50 мл). Водную фазу промывали CH₂Cl₂ (50 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na₂SO₄). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (2,5-5% (2 М NH₃ в MeOH): (CH₂Cl₂)). Собранные фракции давали соединение 19 в виде коричневого масла (1,03 г, 90%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,46 (с, 1H), 7,03 (ушир.с, 1H), 6,73-6,68 (м, 3H), 6,50 (ушир.с, 1H), 5,03 (ушир.с, 2H), 3,62-3,59 (м, 2H), 3,40 (т, J=7,2 Гц, 2H), 3,05-3,02 (м, 2H), 2,52 (т, J=7,5 Гц, 2H), 2,29 (с, 6H);

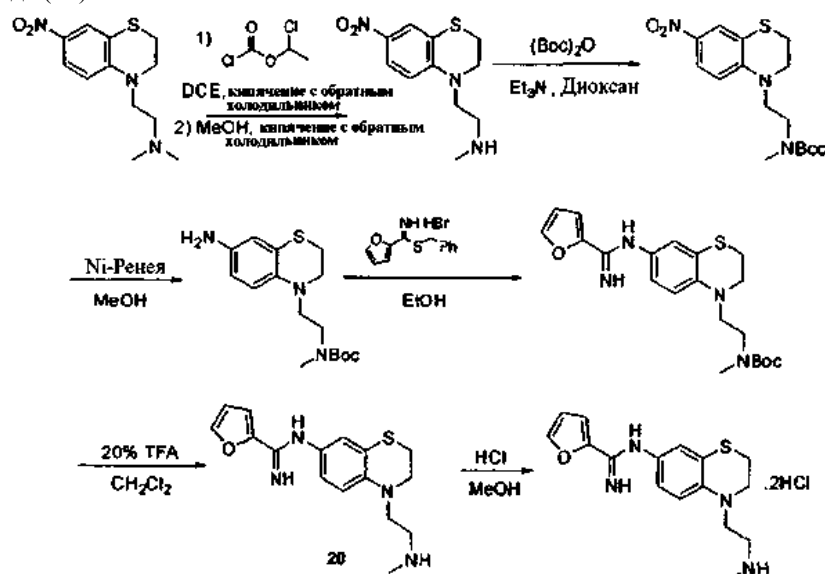
ESI-MS (m/z, %): 333, 331 (MH⁺, 91), 260, 262 (100).

Дигидрохлорид N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимидамида. N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимид (0,166 г, 0,504 ммоль) растворяли в MeOH (2 мл). К раствору при комнатной температуре добавляли 1 М HCl в эфире (2,52 мл, 2,52 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин в атмосфере аргона. Смесь концентрировали, получая при этом бледно-желтое твердое вещество (0,18 г, 93%).

¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 11,36 (с, 1H), 11,25 (ушир.с, 1H), 9,68 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,23 (с, 1H), 7,91 (д, J=2,7 Гц, 1H), 7,07-6,96 (м, 3H), 6,90 (д, J=1,8 Гц, 1H), 3,82-3,77 (м, 2H), 3,67-3,63 (м, 2H), 3,25-3,22 (м, 2H), 3,12-3,09 (м, 2H), 2,80 (с, 3H), 2,78 (с, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 333, 331 (MH⁺, свободное основание, 100), 260, 262 (57); HRMS: вычислено для C₁₇H₂₃N₄OS (MH⁺, свободное основание) 331,1587, найдено 331,1589; чистота по ВЭЖХ 98% площади.

Пример 20: синтез N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимидамида (20)



N,N-диметил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин.

Получен согласно методике, описанной в примере 8.

N-Метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин.

1-Хлорэтилхлорформиат (0,612 мл, 5,61 ммоль) добавляли к раствору N,N-диметил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин (1,0 г, 3,74 ммоль) в 1,2-дихлорэтане (20 мл) при 0°C в атмосфере аргона. Раствор нагревали до комнатной температуры и кипятили с обратным холодильником при энергичном перемешивании в течение 3 ч. Раствор концентрировали и затем кипятили с обратным холодильником в MeOH (20 мл). Раствор концентрировали, получая при этом темно-коричневое вязкое масло (1,05 г, количественный выход).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,96 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,86 (дд, $J=2,7, 9,3$ Гц, 1H), 6,67 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 3,85-3,82 (м, 2H), 3,55 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,03-3,00 (м, 2H), 2,86 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,48 (с, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 256, 254 (MH^+ , 100).

трет-Бутилметил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору N-метил-2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанамин (1,022 г, 4,04 ммоль) и триэтиламина (1,135 мл, 8,08 ммоль) в диоксане (20 мл) в атмосфере аргона добавляли ди-трет-бутилдикarbonат (0,984 мл, 4,24 ммоль). Образовавшийся раствор перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Раствор затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na_2SO_4). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (20-50% EtOAc:гексаны). Собранные фракции концентрировали, получая при этом желто-коричневое масло (0,95 г, 67%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,97 (с, 1H), 7,87 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 6,76-6,66 (м, 1H), 3,80 (ушир.с, 2H), 3,60-3,54 (м, 2H), 3,47-3,45 (м, 2H), 3,03-2,99 (м, 2H), 2,92-2,88 (м, 3H), 1,42 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 278, 276 ($\text{M}+\text{Na}$, 72), 356, 354 (MH^+ , 19), 298, 300 (100), 256, 254 (74).

трет-Бутил-2-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамат.

К раствору трет-бутилметил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (0,8811 г, 2,493 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли никель Ренея (суспензия в воде; ~0,5 г, 2,493 ммоль) с последующим добавлением гидразингидрата (1,213 мл, 24,93 ммоль). Смесь затем погружали в предварительно нагретую масляную баню и кипятили с обратным холодильником в течение 5 мин. Раствор охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через подушку целита. Подушку для фильтрования промывали MeOH и сырое вещество концентрировали. Сырое вещество затем фильтровали через подушку диоксида кремния (70% EtOAc/гексаны). Собранные фракции концентрировали, получая при этом коричневое масло (0,78 г, 98%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 6,64-6,58 (м, 1H), 6,45 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,39 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,53-3,50 (м, 2H), 3,39-3,28 (м, 4H), 3,01-2,98 (м, 2H), 2,90 (с, 3H), 1,45 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 326, 324 (MH^+ , 95), 268 (100).

трет-Бутил-2-(7-(фуран-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамат.

Гидробромид бензилфуран-2-карбимидотиоата (1,199 г, 4,02 ммоль) добавляли к смеси трет-бутил-2-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(метил)карбамата (0,763 г, 2,361 ммоль) в EtOH (20 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь гасили насыщенным рас-

твором бикарбоната натрия (50 мл), разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (2×50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na_2SO_4). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (2,5-5% (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2). Собранные фракции концентрировали, получая при этом белую пену (0,88 г, 90%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,85 (с, 1H), 7,44 (с, 1H), 6,74-6,69 (м, 1H), 6,62 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 4,72 (ушир.с, 2H), 3,64-3,60 (м, 2H), 3,41 (с, 4H), 3,04-3,01 (м, 2H), 2,92 (с, 3H), 1,45 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 419, 417 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(Метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимидамид.

Раствор трет-бутил-2-(7-(фуран-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил(метил)карбамата (0,823 г, 1,978 ммоль) в CH_2Cl_2 охлаждали до 0°C и обрабатывали трифторуксусной кислотой (5 мл). Смесь перемешивали при 0°C в атмосфере аргона в течение 2 ч. Смесь гасили 1н. раствором NaOH (70 мл) и переносили в делительную воронку. Раствор разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (2×50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na_2SO_4). Сырое вещество концентрировали и подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (5-15% 2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2). Собранные фракции концентрировали, получая при этом соединение 20 в виде желтого вязкого масла (0,47 г, 76%).

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,85 (с, 1H), 7,44-7,43 (м, 1H), 6,77-6,74 (м, 2H), 6,70 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,62 (дд, $J=2,4$, 8,7 Гц, 1H), 3,59-3,56 (м, 2H), 3,47 (с, 1H), 3,40 (т, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,05-3,01 (м, 2H), 2,81 (т, $J=6,3$, 2H), 2,48 (с, 3H);

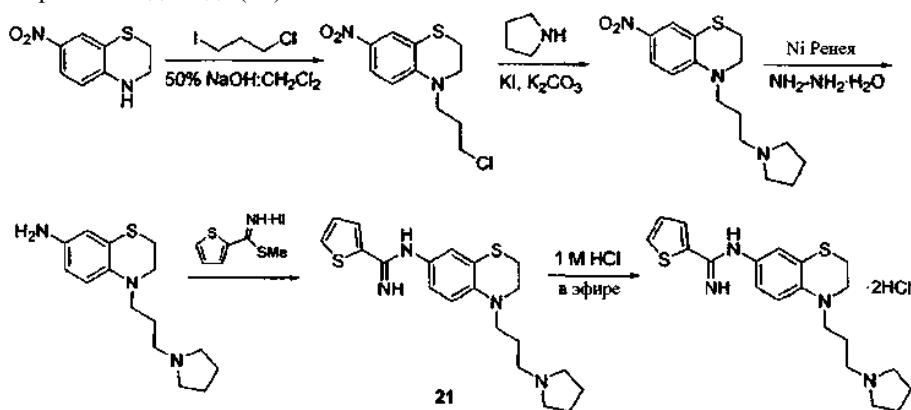
ESI-MS (m/z , %): 319, 317 (MH^+ , 96), 260 (100).

Дигидрохлорид N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимидамида. N-(4-(2-(Метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)фуран-2-карбоксимид (0,4353 г, 1,376 ммоль) растворяли в MeOH (3 мл). При комнатной температуре к раствору добавляли 1 М HCl в простом эфире (6,88 мл, 6,88 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин в атмосфере аргона. Смесь концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество (0,59 г, количественный выход).

^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,31 (с, 1H), 9,58 (с, 1H), 9,30 (ушир.с, 2H), 8,82 (с, 1H), 8,57 (с, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,30 (д, $J=1,2$ Гц, 1H), 7,06-7,03 (м, 2H), 6,97 (дд, $J=2,4$, 8,7 Гц, 1H), 3,74-3,63 (м, 4H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,58-2,55 (м, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 319, 317 (MH^+ , свободное основание, 100), 260 (98); HRMS: вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS}$ (MH^+ , свободное основание) 317,1430, найдено 317,1417; чистота по ВЭЖХ: 99% площади.

Пример 21: синтез N-(4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (21)



7-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 11.

4-(3-Хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Раствор 7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (1,0 г, 5,10 ммоль) и 1-хлор-3-йодпропана (1,075 мл, 10,19 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) обрабатывали 50% раствором NaOH (10 мл) с последующей обработкой бромидом тетрабутиламмония (0,082 г, 0,255 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи (16 ч) при комнатной температуре и затем кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (50 мл) и продукт экстрагировали CH_2Cl_2 (3×25 мл). Объединенные слои CH_2Cl_2 промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и неочищенное вещество очищали колоночной хроматографией (смесь от 1:4 до 2:3 EtOAc :гексаны), получая при этом указанное в заголовке соединение (0,65 г, 47%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,96 (д, 1H, $J=2,7$ Гц), 7,88 (дд, 1H, $J=2,7$, 9,3 Гц), 6,64 (д, 1H, $J=9,3$ Гц), 3,84-3,80 (м, 2H), 3,65-3,60 (м, 4H), 3,05-3,02 (м, 2H), 2,16-2,08 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 273 (MH⁺, 100).

7-Нитро-4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин.

Раствор 4-(3-хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазина (0,54 г, 1,980 ммоль) в сухом ацетонитриле (20 мл) обрабатывали пирролидином (1,637 мл, 19,80 ммоль), карбонатом калия (2,74 г, 19,80 ммоль) и иодидом калия (0,657 г, 3,96 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (50 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (2×25 мл). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и затем сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной флэш-хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанный в заголовке продукт (0,57 г, 94%) в виде сиропа.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,84-7,80 (м, 2H), 6,87 (д, 1H, J=9, 6 Гц), 3,79-3,75 (м, 2H), 3,49 (т, 2H, J=6,9 Гц), 3,08-3,05 (м, 2H), 2,44-2,40 (м, 6H), 1,76-1,69 (м, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 308 (MH⁺, 100).

4-(3-(Пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин.

Раствор 7-нитро-4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазина (0,55 г, 1,789 ммоль) в сухом метаноле (10 мл) обрабатывали гидразингидратом (0,652 мл, 17,89 ммоль), затем никелем Ренея (0,1 г, 1,789 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 5 мин с применением предварительно нагретой масляной бани. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через подушку целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные слои метанола выпаривали и сырое вещество очищали колоночной флэш-хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанный в заголовке продукт (0,45 г, 91%) в виде сиропа.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 6,51 (д, 1H, J=9,3 Гц), 6,26-6,23 (м, 2H), 4,41 (с, 2H), 3,37-3,30 (м, 2H, перекрывается с пиком воды), 3,11 (т, 2H, J=6,9 Гц), 2,98-2,95 (м, 2H), 2,42-2,37 (м, 6H), 1,67-1,60 (м, 6H).

N-(4-(3-(Пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Раствор 4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-7-амин (0,43 г, 1,550 ммоль) в сухом этаноле (15 мл) обрабатывали гидроиодидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,884 г, 3,10 ммоль) при комнатной температуре и образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ (30 мл) и продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (3×20 мл). Объединенные слои CH₂Cl₂ промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и затем сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом указанный в заголовке продукт 21 (0,51 г, 85%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,68 (д, 1H, J=4,5 Гц), 7,55 (д, 1H, J=5,1 Гц), 7,06 (дд, 1H, J=3,6, 4,9 Гц), 6,70 (д, 1H, J=8,7 Гц), 6,52-6,44 (м, 2H), 6,32 (ушир.с, 2H), 3,51-3,48 (м, 2H), 3,27 (т, 2H, J=7,2 Гц), 3,04-3,00 (м, 2H), 2,48-2,40 (м, 6H), 1,80-1,60 (м, 6H);

ESI-MS (m/z, %): 387 (MH⁺, 68), 276 (100), 194 (75); чистота по ВЭЖХ: 98,32% площади.

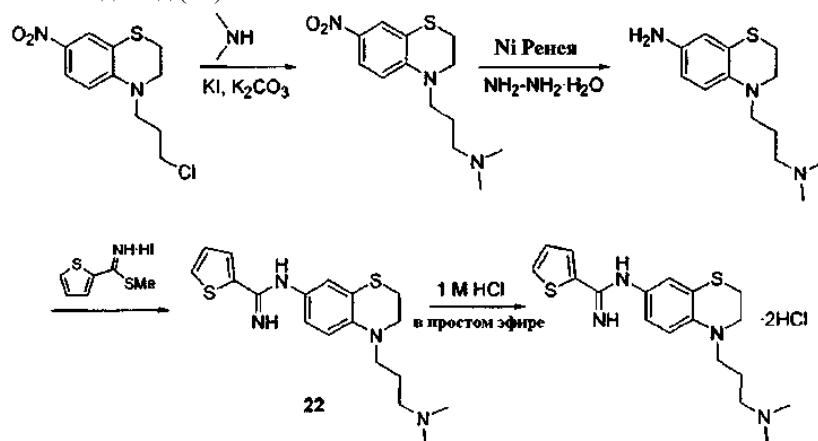
Дигидрохлорид N-(4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

Раствор N-(4-(3-(пирролидин-1-ил)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,48 г, 1,242 ммоль) в сухом метаноле (10 мл) обрабатывали хлористо-водородной кислотой (1 М раствор в простом эфире; 3,72 мл, 3,72 ммоль) при комнатной температуре и образовавшуюся смесь перемешивали в течение 15 мин. Растворитель затем выпаривали и продукт сушили в вакууме, получая при этом дигидрохлоридную соль (0,55 г, 96%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 11,34 (ушир.с, 1H), 11,28 (с, 1H), 9,68 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,16-8,12 (м, 2H), 7,35 (т, 1H, J=4,2 Гц), 3,66-3,60 (м, 2H), 3,50-3,40 (м, 4H), 3,16-3,05 (м, 4H), 3,02-2,92 (м, 2H), 2,06-1,84 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 387 (MH⁺, свободное основание, 92), 276 (87), 194 (100); ESI-HRMS: вычислено для C₂₀H₂₇N₄S₂ (MH⁺, свободное основание) 387,1671, найдено 387,1659; чистота по ВЭЖХ: 98,58%.

Пример 22: синтез N-(4-(3-(диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (22)



4-(3-Хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 21.

N,N-Диметил-3-(7-нитро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пропан-1-амин.

Раствор 4-(3-хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазина (0,7 г, 2,57 ммоль), диметиламина (2 М раствор в ТГФ) (2,57 мл, 5,13 ммоль), иодида калия (0,426 г, 2,57 ммоль) и карбоната калия (1,773 г, 12,83 ммоль) в сухом ацетонитриле (20 мл) перемешивали при 80°C в течение 6 ч в герметизированной трубке. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (60 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 1:9 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт (0,3 г, 42%) в виде густого сиропа.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,85-7,80 (м, 2Н), 6,85 (д, 1Н, J=8,7 Гц), 3,77 (т, 2Н, J=5,1 Гц), 3,47 (т, 2Н, J=7,2 Гц), 3,06 (т, 2Н, J=5,1 Гц), 2,24 (т, 2Н, J=6,6 Гц), 2,14 (с, 6Н), 1,75-1,65 (м, 2Н);

ESI-MS (m/z, %): 282 (MH⁺, 100).

4-(3-(Диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-амин.

Раствор N,N-диметил-3-(7-нитро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пропан-1-амин (0,27 г, 0,960 ммоль) в сухом метаноле (10 мл) обрабатывали гидразингидратом (0,349 мл, 9,60 ммоль) с последующим добавлением никеля Ренея (0,1 г, 0,096 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь кипятили с обратным холодильником в течение 5 мин на предварительно нагретой масляной бане. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через подушку целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные слои метанола упаривали и неочищенное вещество очищали колоночной флэш-хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт (0,24 г, 99%) в виде сиропа.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 6,50 (дд, 1Н, J=2,4, 7,0 Гц), 6,26-6,23 (м, 2Н), 4,41 (с, 2Н), 3,32-3,30 (м, 2Н), 3,09 (т, 2Н, J=7,2 Гц), 2,98-2,95 (м, 2Н), 2,21 (т, 2Н, J=6,9 Гц), 2,11 (с, 6Н), 1,63-1,54 (м, 2Н);

ESI-MS (m/z, %): 252 (MH⁺, 100).

N-(4-(3-(Диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Раствор 4-(3-(диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-амин (0,22 г, 0,875 ммоль) в сухом этаноле (10 мл) обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,499 г, 1,750 ммоль) при комнатной температуре и образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи (18 ч) при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором NaHCO₃ (25 мл) и продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (3×20 мл). Объединенные слои CH₂Cl₂ промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт 22 (0,27 г, 86%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,68 (д, 1Н, J=3,0 Гц), 7,56 (д, 1Н, J=5,1 Гц), 7,06 (дд, 1Н, J=3,9, 4,8 Гц), 6,69 (д, 1Н, J=8,7 Гц), 6,52-6,45 (м, 2Н), 6,33 (ушир.с, 2Н), 3,51-3,48 (м, 2Н), 3,25 (т, 2Н, J=7,2 Гц), 3,04-3,01 (м, 2Н), 2,25 (т, 2Н, J=6,9 Гц), 2,14 (с, 6Н), 1,70-1,61 (м, 2Н);

ESI-MS (m/z, %): 361 (MH⁺, 93), 276 (100); чистота по ВЭЖХ: 98,23% площади.

Дигидрохлорид N-(4-(3-(диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

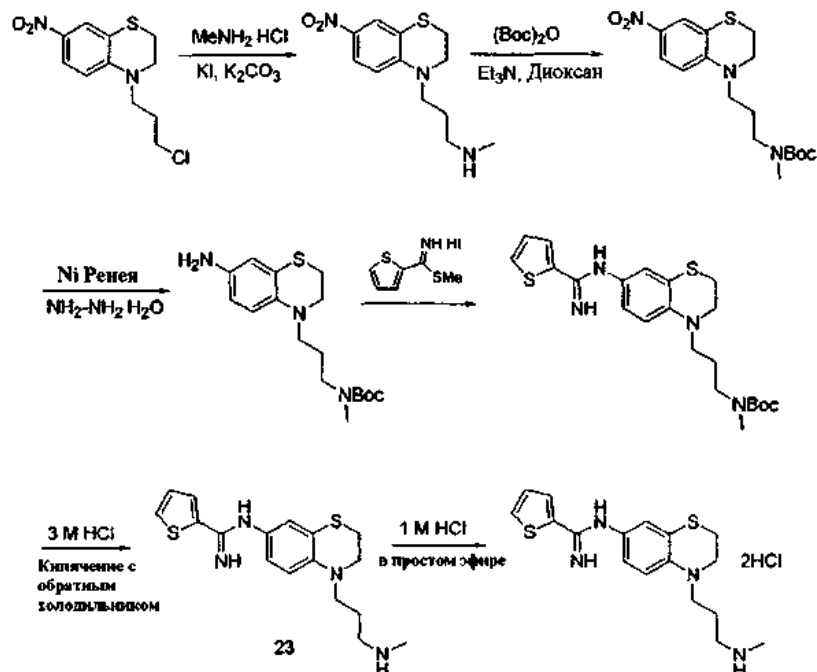
Раствор 4-(3-(диметиламино)пропил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,16 г, 0,444 ммоль) в сухом метаноле (5 мл) обрабатывали хлоридом водорода (1 М

раствор в эфире, 1,331 мл, 1,331 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 15 мин, растворитель выпаривали и остаток сушили в высоком вакууме, получая при этом указанный в заголовке продукт (0,19 г, 99%) в виде твердого вещества.

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 11,22 (с, 1H), 10,91 (ушир.с, 1H), 9,67 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,15-8,11 (м, 2H), 7,36 (т, 1H, $J=4,5$ Гц), 7,04-6,88 (м, 3H), 3,64-3,61 (м, 2H), 3,41 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 3,14-3,02 (м, 4H), 2,72 (д, 6H, $J=4,8$ Гц), 2,06-1,98 (м, 2H);

ESI-MC (m/z , %): 361 (MH^+ , свободное основание, 91), 276 (100); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+ , свободное основание) 361,1515, найдено 361,1515; чистота по ВЭЖХ: 98,15%.

Пример 23: синтез N-(4-(3-(метиламино)пропил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (23)



4-(3-Хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 21.

N-Метил-3-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропан-1-амин. Раствор 4-(3-хлорпропил)-7-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (1,1 г, 4,03 ммоль), гидрохлорида метиламина (0,545 г, 8,07 ммоль), иодида калия (0,669 г, 4,03 ммоль) и карбоната калия (2,79 г, 20,16 ммоль) в сухом ацетонитриле (25 мл) перемешивали при 80°C в герметизированной трубке в течение 6 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (100 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3×25). Объединенные слои этилацетата промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na_2SO_4). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали флэш-хроматографией (смесь 1:9 (2 M NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2) на силикагеле, получая при этом указанное в заголовке соединение (0,8 г, 74%) в виде густого сиропа.

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 7,84-7,81 (м, 2H), 6,86 (д, 1H, $J=9,9$ Гц), 3,78-3,75 (м, 2H), 3,50 (т, 2H, $J=7,5$ Гц), 3,08-3,04 (м, 2H), 2,48 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 2,27 (с, 3H), 1,74-1,64 (м, 2H);

ESI-MS (m/z , %): 268 (MH^+ , 100).

трет-Бутилметил-(3-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил)карбамат.

Раствор N-метил-3-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропан-1-амина (0,77 г, 2,88 ммоль) в сухом 1,4-диоксане (20 мл) обрабатывали триэтиламино (1,214 мл, 8,64 ммоль), затем ди-трет-бутидикарбонатом (0,736 мл, 3,17 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч. Растворитель затем выпаривали и сырое вещество очищали флэш-хроматографией (смесь 1:1 EtOAc :гексаны) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт (1,02 г, 96%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,97 (д, 1H, $J=2,4$ Гц), 7,88 (дд, 1H, $J=2,7, 9,3$ Гц), 6,56 (д, 1H, $J=9,3$ Гц), 3,79-3,76 (м, 2H), 3,41 (т, 2H, $J=7,8$ Гц), 3,31 (т, 2H, $J=6,9$ Гц), 3,04-3,00 (м, 2H), 2,88 (с, 3H), 1,92-1,82 (м, 2H), 1,46 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 390 ($\text{M}+\text{Na}$, 56), 368 (MH^+ , 10), 312 (60), 268 (100).

трет-Бутил-3-(7-амино-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил(метил)карбамат.

Суспензию трет-бутилметил-(3-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил)карбамат (0,6 г, 1,633 ммоль) в сухом метаноле (10 мл) обрабатывали никелем Ренея (0,1 г, 1,633 ммоль) с последующим

обработкой гидразингидратом (0,595 мл, 16,33 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин на предварительно нагретой масляной бане. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через подушку целита и промывали метанолом (3×10 мл). Объединенные слои метанола упаривали и сырое вещество очищали флэш-хроматографией (смесь 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт (0,55 г, количественный выход) в виде коричневого сиропа.

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 6,46 (д, 1H, J=9,6 Гц), 6,25-6,21 (м, 2H), 4,44 (с, 2H), 3,32-3,28 (м, 2H), 3,19 (т, 2H, J=6,9 Гц), 3,04 (т, 2H, J=7,2 Гц), 3,00-2,97 (м, 2H), 2,77 (с, 3H), 1,74-1,62 (м, 2H), 1,38 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 338 (MH⁺, 100), 337 (96), 282 (54).

трет-Бутилметил-(3-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил)карбамат.

Раствор трет-бутил-3-(7-амино-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил(метил)карбамат (0,52 г, 1,541 ммоль) в сухом этаноле (20) обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,879 г, 3,08 ммоль) при комнатной температуре и перемешивали на протяжении ночи (18 ч). Реакционную смесь делали основной насыщенным раствором NaHCO₃ (50 мл) и продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (2×25 мл). Объединенные слои CH₂Cl₂ промывали насыщенным раствором соли (20 мл) и сушили (Na₂SO₄). Растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь 2:98 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом указанный в заголовке продукт (0,60 г, 87%).

ESI-MS (m/z, %): 447 (MH⁺, 100).

N-(4-(3-(Метиламино)пропил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию трет-бутилметил-(3-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пропил)карбамата (0,55 г, 1,231 ммоль) в 3 М хлористо-водородной кислоте (25 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до температуры, фильтровали и промывали водой (2×10 мл). Объединенные водные слои упаривали. Неочищенное вещество делали основным 3 М раствором NaOH (50 мл) и продукт экстрагировали CH₂Cl₂ (3×20 мл). Объединенные слои CH₂Cl₂ промывали насыщенным раствором соли (15 мл) и сушили (Na₂SO₄). Органический растворитель выпаривали и сырое вещество очищали колоночной хроматографией (смесь от 5:95 до 1:9 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂) на силикагеле, получая при этом соединение 23 (0,4 г, 94%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,68 (дд, 1H, J=1,2, 3,7 Гц), 7,56 (дд, 1H, J=0,9, 5,1 Гц), 7,06 (дд, 1H, J=3,6, 4,9 Гц), 6,70 (д, 1H, J=8,7 Гц), 6,51-6,44 (м, 2H), 6,31 (с, 2H), 3,50-3,47 (м, 2H), 3,32-3,25 (м, 4H), 3,04-3,01 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), 1,70-1,61 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 347 (MH⁺, 80), 276 (100); чистота по ВЭЖХ: 96,05% площади.

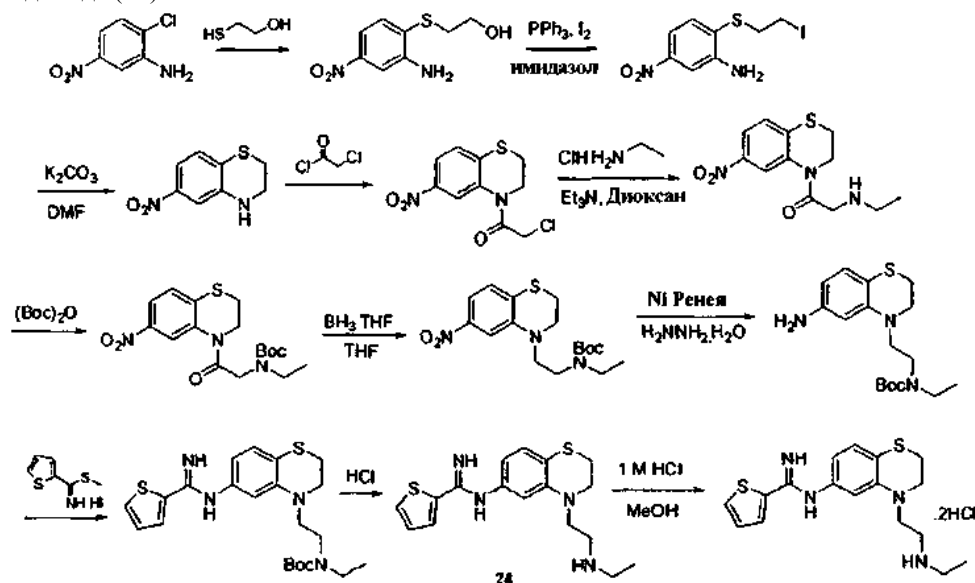
Дигидрохлорид N-(4-(3-(метиламино)пропил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

Раствор N-(4-(3-(метиламино)пропил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,37 г, 1,068 ммоль) в сухом метаноле (10 мл) обрабатывали хлоридом водорода (1 М в простом эфире) (3,20 мл, 3,20 ммоль) и перемешивали в течение 15 мин. Растворитель выпаривали и сырое вещество сушили в высоком вакууме, получая при этом дигидрохлорид (0,44 г, 98%) в виде твердого вещества.

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 11,22 (с, 1H), 9,66 (с, 1H), 9,19 (ушир.с, 2H), 8,69 (с, 1H), 8,15-8,12 (м, 2H), 7,35 (т, 1H, J=4,2 Гц), 7,04-6,89 (м, 3H), 3,64-3,61 (м, 2H), 3,44 (т, 2H, J=6,9 Гц), 3,10-3,07 (м, 2H), 2,96-2,86 (м, 2H), 2,53 (т, 3H, J=5,7 Гц), 1,98-1,86 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 347 (MH⁺, свободное основание, 65), 276 (100); ESI-HRMS: вычислено для C₁₇H₂₃N₄S₂ (MH⁺, свободное основание) 347,1358, найдено 347,1345; чистота по ВЭЖХ: 96,11% площади.

Пример 24: синтез N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (24)



2-(2-Амино-4-нитрофенилтио)этанол.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-5-нитроанилина (1,0 г, 5,79 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли карбонат калия (1,60 г, 11,59 ммоль) с последующим добавлением 2-меркаптоэтанола (0,813 мл, 11,59 ммоль). Образовавшуюся смесь затем нагревали при 60°C в течение 2 ч и затем выдерживали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали водой (3×), 1н. NaOH и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красно-оранжевое твердое вещество (1,19 г, 96%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,52 (с, 1H), 7,42-7,33 (м, 2H), 5,79 (с, 2H), 4,99 (т, J=5,4 Гц, 1H), 3,55 (кв, J=6,2 Гц, 2H), 3,02 (т, J=6,6 Гц, 2H);

ESI-MS (*m/z*, %): 215 (MH⁺, 23), 169 (100), 111 (63).

2-(2-Йодэтилтио)-5-нитроанилин.

К перемешиваемому раствору трифенилфосфина (1,81 г, 6,93 ммоль) и имидазола (1,887 мл, 13,86 ммоль) в ТГФ (15 мл) при 0°C добавляли йод (1,759 г, 6,93 ммоль). После перемешивания в течение 5 мин добавляли 2-(2-амино-4-нитрофенилтио)этанол (990 мг, 4,62 ммоль) в виде раствора в ТГФ (5 мл). Образовавшуюся смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч, затем разбавляли этилацетатом и промывали водой (3×) и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, затем хроматографировали в смеси 4:1 гексаны:этилацетат, получая при этом требуемое соединение (1,18 г, 79%) в виде оранжевого твердого вещества.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,55 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,45 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,34 (дд, J=8,4, 2,4 Гц, 1H), 5,89 (ушир.с, 2H), 3,38-3,26 (м, 4H);

EI-MS (*m/z*, %): 324 (M⁺, 46), 196 (81), 154 (100), 126 (95).

6-Нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин.

К перемешиваемому раствору 2-(2-йодэтилтио)-5-нитроанилина (1,18 г, 3,64 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли карбонат калия (1,006 г, 7,28 ммоль). Образовавшуюся смесь затем перемешивали при 90°C в течение 1 ч. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (40 мл). Образовавшийся красный осадок собирали вакуумным фильтрованием, получая при этом указанное в заголовке соединение (625 мг, 87%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,38 (с, 1H), 7,28 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,12 (д, J=8,7 Гц, 6,78 (ушир.с, 1H), 3,56-3,49 (м, 2H), 3,08-3,03 (м, 2H);

EI-MS (*m/z*, %): 196 (M⁺, 100), 181 (45), 122 (73).

2-Хлор-1-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанол.

К перемешиваемому раствору 6-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (620 мг, 3,16 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавляли 2-хлорацетилхлорид (0,277 мл, 3,48 ммоль). Образовавшуюся смесь затем перемешивали при 60°C в течение 10 мин. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали водой (3×), смесью 1:1 вода:насыщенный раствор бикарбоната натрия, насыщенным соевым раствором. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом требуемый продукт (860 мг, 100%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 8,36 (д, J=2,1 Гц, 1H), 7,96 (дд, J=8,7, 2,1 Гц, 1H), 7,52 (д, J=8,7 Гц, 1H), 4,63 (с, 2H), 3,99-3,92 (м, 2H), 3,39-3,33 (м, 2H);

ESI-MS (*m/z*, %): 295 (M+Na, 68), 273 (MH⁺, 100), 197 (43).

2-(Этиламино)-1-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанон.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-1-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (855 мг, 3,14 ммоль) в диоксане (15 мл) и триэтиламин (0,881 мл, 6,27 ммоль) добавляли гидрохлорид этанамина (1,278 г, 15,68 ммоль) в виде раствора в воде (7,50 мл). Образовавшуюся смесь энергично перемешивали при комнатной температуре на протяжении уикенда. Смесь затем разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном (2х). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:9 (2 М NH₃ в метаноле):этилацетат, получая при этом требуемый продукт (775 мг, 88%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 8,37 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,93 (дд, J=8,7, 2,4 Гц, 1H), 7,50 (д, J=8,7 Гц, 1H), 3,97-3,90 (м, 2H), 3,52 (с, 2H), 3,37-3,33 (м, 2H), 2,58-2,50 (м, 2H), 2,07 (ушир.с, 1H), 1,00 (т, J=7,0 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 282 (MH⁺, 100).

трет-Бутилэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

К перемешиваемому раствору 2-(этиламино)-1-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (770 мг, 2,74 ммоль) в диоксане (10 мл) и триэтиламин (0,769 мл, 5,47 ммоль) добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (627 мг, 2,87 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали последовательно водой и смесью 1:1 воды и насыщенного раствора соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом бледно-желтое твердое вещество (1,02 г, 98%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 8,33 (с, 1H), 7,94 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,51 (д, J=8,7 Гц, 1H), 4,18 (с, 2H), 3,96-3,89 (м, 2H), 3,32-3,19 (м, 4H), 1,38, 1,30 (2с, 9H), 1,09-1,00 (м, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 404 (M+Na, 51), 382 (MH⁺, 36), 282 (100).

трет-Бутилэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутилэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (1,01 г, 2,65 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляли комплекс боран-тетрагидрофуран (1 М в тетрагидрофуране; 7,94 мл, 7,94 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь затем гасили посредством медленного добавления по каплям (чтобы избежать избыточного выделения пузырьков) MeOH (5 мл). Подвергнутую гашению реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали водой (2х) и насыщенным карбонатом натрия (2х). Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красно-оранжевое масло (925 мг, 95%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,59-7,41 (м, 1H), 7,39-7,32 (м, 1H), 7,24-7,13 (м, 1H), 3,69-3,62 (м, 2H), 3,58-3,48 (м, 2H), 3,45-3,35 (м, 2H), 3,28-3,16 (м, 2H), 3,15-3,08 (м, 2H), 1,32, 1,24 (2с, 9H), 1,04 (т, J=6,9 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 390 (M+Na, 70), 368 (MH⁺, 12), 312 (47), 268 (100).

трет-Бутил-2-(6-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутилэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (925 мг, 2,52 ммоль) в этаноле (10 мл) добавляли никель Ренея (~148 мг, 2,52 ммоль) с последующим добавлением гидразингидрата (1,225 мл, 25,2 ммоль). Образовавшуюся смесь энергично перемешивали при 50°C в течение 10 мин. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и затем промывали последовательно смесью 1:1 воды и насыщенного карбоната натрия (3х) и насыщенным раствором бикарбоната натрия. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красное масло (810 мг, 95%);

ESI-MS (m/z, %): 338 (MH⁺, 100), 282 (53), 238 (36).

трет-Бутилэтил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-2-(6-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил(этил)карбамата (800 мг, 2,371 ммоль) в этаноле (8 мл) добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,014 г, 3,56 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3х). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:1 гексаны:этилацетат, получая при этом требуемый продукт (415 мг, 39,2%).

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆) δ 7,70 (д, J=3,0 Гц, 1H), 7,58 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,49-7,44 (м, 1H), 7,07 (т, J=4,4 Гц, 1H), 6,84 (д, J=7,8 Гц, 1H), 6,35-6,26 (м, 2H), 6,08 (д, J=7,5 Гц, 1H), 3,64-3,49 (м, 2H), 3,45-3,25 (м, 4H), 3,24-3,12 (м, 2H), 3,01-2,85 (м, 2H), 1,39-1,29 (м, 9H), 1,02 (т, J=6,9 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 447 (MH⁺, 100).

N-(4-(2-(Этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

К перемешиваемой суспензии трет-бутилэтил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (410 мг, 0,918 ммоль) в метаноле (6 мл) добавляли 3Н. раствор HCl (3,06 мл, 9,18 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 90°C в течение 30 мин. Смесь затем пропускали через шприц с фильтром 0,45 мкм и фильтрат концентрировали в вакууме, получая при этом сухую пену. Остаток затем распределяли между смесью 1:1 вода:насыщенный раствор бикар-

боната натрия и дихлорметана. Органический слой отделяли и водную фазу снова экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:4:5 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат:дихлорметан, получая при этом требуемый продукт 24 (135 мг, 42,4%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 7,71 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 7,58 (д, 5,1 Гц, 1H), 7,08 (т, $J=4,4$ Гц, 1H), 6,82 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 6,33 (ушир.с, 2H), 6,21 (с, 1H), 6,07 (дд, $J=8,1, 1,5$ Гц, 1H), 3,63-3,57 (м, 2H), 3,33-3,28 (м, 2H), 3,01-2,96 (м, 2H), 2,71-2,65 (м, 2H), 2,53 (кв, $J=7,0$ Гц, 2H), 1,66 (ушир.с, 1H), 1,17 (т, $J=7,0$ Гц, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 347 (MH^+ , 83), 276 (100); HRMS: вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+) 347,1358, найдено 347,1346; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

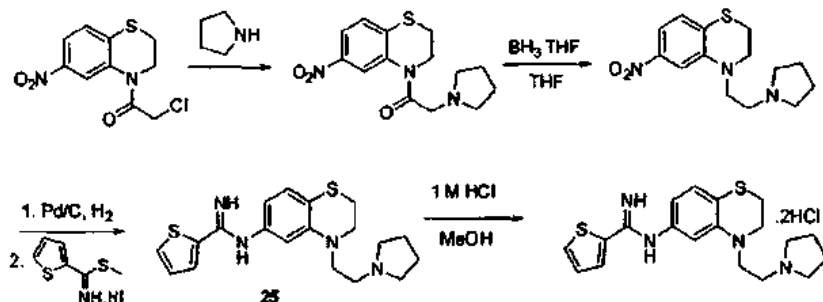
Дигидрохлорид N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

К раствору N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (131 мг, 0,378 ммоль) в метаноле (2 мл) добавляли хлорид водорода (1 М в диэтиловом простом эфире; 1,134 мл, 1,134 ммоль). Образовавшуюся смесь концентрировали в вакууме, получая при этом оранжевое твердое вещество (159 мг, 100%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 11,43 (с, 1H), 9,72 (с, 1H), 9,22 (ушир.с, 2H), 8,73 (с, 1H), 8,18-8,12 (м, 2H), 7,38-7,34 (м, 1H), 7,14-7,05 (м, 2H), 6,64-6,60 (м, 1H), 3,70-3,61 (м, 4H), 3,16-3,02 (м, 4H), 2,99-2,88 (м, 2H), 1,21 (т, $J=7,2$ Гц, 3H);

HRMS ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{S}_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 347,1358, найдено 347,1346; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 25: синтез N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (25)



2-Хлор-1-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанон.

Получен согласно методике, описанной в примере 24.

1-(6-Нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-(пирролидин-1-ил)этанон.

К перемешиваемому раствору 2-хлор-1-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанола (685 мг, 2,51 ммоль) в диоксане (10 мл), охлажденному до 0°C , добавляли HCl , 1 М раствор в диэтиловом простом эфире (2,51 мл, 2,51 ммоль) с последующим добавлением по каплям пирролидина (0,21 мл, 2,51 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 0°C в течение 5 мин и затем нагревали до комнатной температуры, перемешивания на протяжении ночи. В это время добавляли дополнительный пирролидин (0,21 мл, 2,51 ммоль), с последующим добавлением воды (1 мл), чтобы помочь растворению. После 1 ч перемешивания при комнатной температуре смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия, водой (3 $\times$) и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом желто-оранжевое масло (756 мг, 98%).

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 8,52 (ушир.с, 1H), 7,93 (дд, $J=9,0, 1,6$ Гц, 1H), 7,49 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,01-3,91 (м, 4H), 3,56 (с, 2H), 3,45-3,35 (м, 2H), 2,55-2,50 (м, 2H), 2,22-2,14 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 308 (MH^+ , 100).

6-Нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

К перемешиваемому раствору 1-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-(пирролидин-1-ил)этанола (750 мг, 2,440 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляли комплекс боран-тетрагидрофуран (1 М в тетрагидрофуране; 7,32 мл, 7,32 ммоль). Образовавшуюся смесь затем перемешивали при 55°C на протяжении ночи. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и осторожно гасили посредством медленного добавления по каплям метанола (5 мл). Гашеную смесь затем перемешивали при 55°C на протяжении ночи. В это время газы реакции вентилировали в атмосферу. Смесь затем концентрировали и хроматографировали на силикагеле, элюируя смесью 1:4:5 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат:дихлорметан, получая при этом требуемый продукт (654 мг, 91%) в виде красного масла.

^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 7,46 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,36 (дд, $J=8,4, 2,1$ Гц, 1H), 7,19 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,69-3,65 (м, 2H), 3,50 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,14-3,10 (м, 2H), 2,63 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,56-2,51 (м, 2H), 1,71-1,66 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 294 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(Пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

К перемешиваемому раствору 6-нитро-4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (649 мг, 2,212 ммоль) в этаноле (5 мл) добавляли 10 мас.%, палладия на активированном угле (235 мг, 0,221 ммоль) в виде суспензии в этаноле (5 мл). Образовавшуюся суспензию перемешивали в атмосфере водорода (давление из баллона) в течение 3 ч (наблюдалось исчезновение желтого цвета). Баллон убрали и к смеси добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (1,262 г, 4,42 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали в атмосфере аргона на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли дихлорметаном и фильтровали через целит. Фильтрат затем разбавляли насыщенным раствором карбоната натрия и экстрагировали дихлорметаном (2х). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:19 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат, получая при этом требуемый продукт 25 (438 мг, 53,1%).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 7,71 (д, $J=3,3$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,83 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,38 (ушир.с, 2H), 6,19 (с, 1H), 6,08 (д, $J=1\text{H}$), 3,63-3,58 (м, 2H), 3,40-3,33 (м, 2H), 3,01-2,97 (м, 2H), 2,61 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 2,49-2,42 (м, 4H), 1,70-1,61 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 373 (MH^+ , 62), 276 (100); HRMS: вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+) 373,1515, найдено 373,1512; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

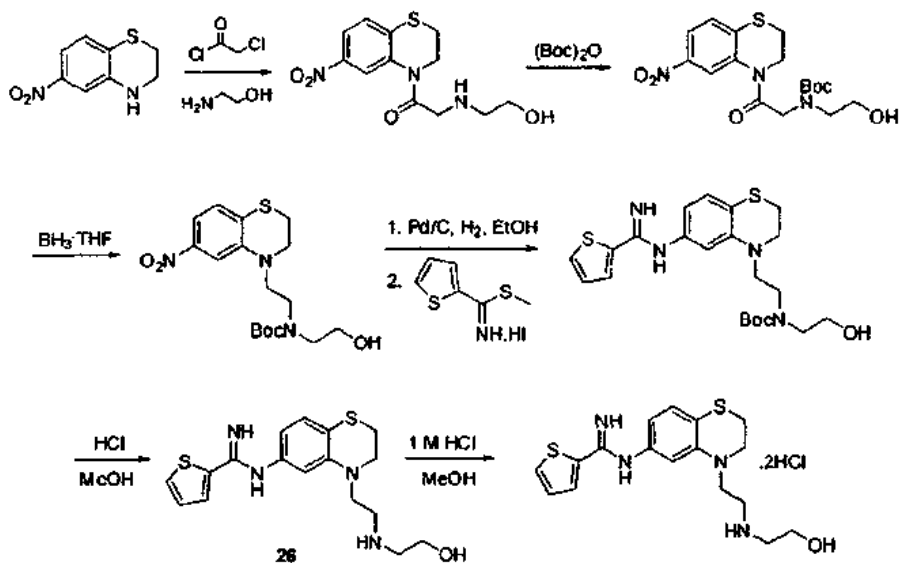
Дигидрохлорид N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

К раствору N-(4-(2-(пирролидин-1-ил)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (424 мг, 1,138 ммоль) в метаноле (4 мл) добавляли хлорид водорода (1 М в диэтиловом эфире; 3,41 мл, 3,41 ммоль). Образовавшуюся смесь концентрировали в вакууме, получая при этом оранжевое твердое вещество (507 мг, 100%).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 11,60-11,40 (м, 2H), 9,75 (с, 1H), 8,78 (с, 1H), 8,22-8,10 (м, 2H), 7,36 (т, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,15-7,05 (м, 2H), 6,64 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 3,80-3,71 (м, 2H), 3,70-3,61 (м, 2H), 3,58-3,45 (м, 2H), 3,43-3,30 (м, 2H), 3,16-3,07 (м, 2H), 3,06-2,95 (м, 2H), 2,05-1,92 (м, 2H), 1,90-1,79 (м, 2H);

HRMS ($\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{S}_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 73,1515, найдено 373,1512. Чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 26: синтез N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (26)



6-Нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 24.

2-(2-Гидроксиэтиламино)-1-(6-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанол.

К перемешиваемому раствору 6-нитро-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (500 мг, 2,55 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) добавляли 2-хлорацетилхлорид (302 мг, 2,68 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C в течение 5 мин. Реакционная смесь сначала была мутной, затем становилась светлой. В это время реакционную смесь охлаждали до 0°C и к смеси одновременно добавляли по каплям хлорид водорода (4 М раствор в диоксане; 5,10 мл, 20,38 ммоль) и 2-аминоэтанол (1,868 г, 30,6 ммоль). Образовавшуюся смесь нагревали до комнатной температуры и добавляли воду (5 мл), чтобы помочь растворению. Смесь затем перемешивали при 60°C в течение 3 ч. Смесь затем разбавляли водой и насыщенным раствором карбоната натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (5х). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:4:5 (2

М раствор NH_3 в метаноле):этилацетат:дихлорметан, получая при этом требуемый продукт (473 мг, 62,4%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,36 (д, $J=2$, 1 Гц, 1H), 7,93 (дд, $J=8,7$, 2,1 Гц, 1H), 7,50 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,50 (т, $J=5,1$ Гц, 1H), 3,96-3,90 (м, 2H), 3,56 (с, 2H), 3,48-3,40 (м, 2H), 3,32-3,26 (м, 2H), 2,58 (т, $J=5,0$ Гц, 2H), 2,18-2,08 (ушир.с, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 298 (MH^+ , 100).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

К перемешиваемому раствору 2-(2-гидроксиэтиламино)-1-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (470 мг, 1,581 ммоль) в диоксане (10 мл) и триэтиламин (0,444 мл, 3,16 ммоль) добавляли ди-трет-бутилдикarbonат (362 мг, 1,660 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали три раза смесью 1:1 воды и насыщенного раствора бикарбоната натрия. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом бледно-желтую пену (625 мг, 99%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,35-8,30 (м, 1H), 7,99-7,91 (м, 1H), 7,56-7,48 (м, 1H), 4,67-4,59 (м, 1H), 4,26-4,21 (м, 2H), 3,96-3,88 (м, 2H), 3,51-3,43 (м, 2H), 3,31-3,21 (м, 4H), 1,38, 1,31 (2с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 420 ($\text{M}+\text{Na}$, 47), 398 (MH^+ , 34), 320 (35), 298 (100).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (620 мг, 1,560 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) по каплям добавляли комплекс боран-тетрагидрофуран (1 М раствор в тетрагидрофуране; 4,68 мл, 4,68 ммоль), чтобы избежать избыточное выделение пузырьков. Смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь затем гасили посредством медленного добавления по каплям MeOH. Подвергнутую гашению реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красное масло (595 мг, 99%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,59-7,44 (м, 1H), 7,38-7,32 (м, 1H), 7,22-7,13 (м, 1H), 4,74 (т, $J=5,1$ Гц, 1H), 3,69-3,62 (м, 2H), 3,61-3,39 (м, 6H), 3,29-3,17 (м, 2H), 3,15-3,04 (м, 2H), 1,31, 1,24 (2с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 406 ($\text{M}+\text{Na}$, 55), 328 (40), 284 (100).

трет-Бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидаидо)-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамат.

Перемешиваемую суспензию трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (590 мг, 1,539 ммоль) и 10 мас.%, палладия на активированном угле (164 мг, 0,154 ммоль) в этаноле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода (101325 Па) (1 атм) в течение 2 ч (желтый цвет исчезает). К этой смеси затем добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (878 мг, 3,08 ммоль) и образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли дихлорметаном и затем фильтровали через целит. Фильтрат затем разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном (4×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в этилацетате, получая при этом требуемый продукт (339 мг, 47,6%) в виде желтой пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,69 (с, 1H), 7,58 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 7,07 (т, $J=4,2$ Гц, 1H), 6,41-6,25 (м, 3H), 6,08 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 4,71-4,65 (м, 1H), 3,63-3,54 (м, 2H), 3,49-3,33 (м, 6H), 3,27-3,15 (м, 2H), 3,02-2,94 (м, 2H), 1,39-1,29 (м, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 463 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидаид.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-2-гидроксиэтил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидаидо)-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этил)карбамата (334 мг, 0,722 ммоль) в метаноле (5 мл) добавляли HCl, 3 М раствор в воде (2,407 мл, 7,22 ммоль). Образовавшийся раствор перемешивали при 90°C в течение 1 ч. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли насыщенным раствором карбоната натрия и экстрагировали дихлорметаном (6×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:9 (2 М NH_3 в метаноле) г этилацетат, получая при этом требуемый продукт 26 (175 мг, 66,9%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,71 (д, $J=3,3$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,83 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,34 (ушир.с, 2H), 6,22 (с, 1H), 6,07 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 4,49-4,43 (м, 1H), 3,63-3,55 (м, 2H), 3,46-3,38 (м, 2H), 3,37-3,28 (м, 2H), 3,01-2,95 (м, 2H), 2,71 (т, $J=6,4$ Гц, 2H), 2,59 (т, $J=5,7$ Гц, 2H), 1,91-1,75 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 363 (MH^+ , 100), 276 (99), 268 (62); HRMS: вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{OS}_2$ (MH^+) 363,1307, найдено 363,1290; чистота по ВЭЖХ 97% площади.

Дигидрохлорид N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидаид.

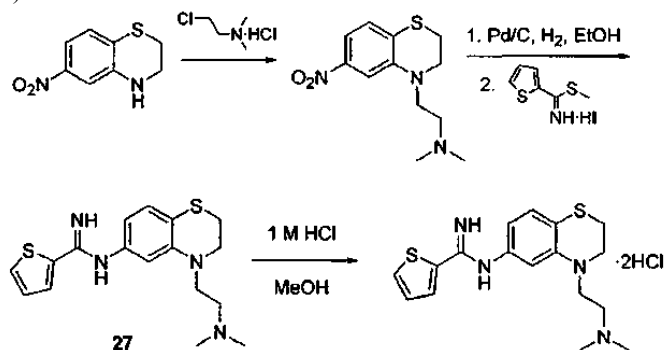
К раствору N-(4-(2-(2-гидроксиэтиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-

карбоксимидамида (165 мг, 0,455 ммоль) в метаноле (2 мл) добавляли HCl (1 М раствор в диэтиловом простом эфире; 1,365 мл, 1,365 ммоль). Образовавшийся раствор концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество (197 мг, 99%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 11,46 (с, 1H), 9,75 (с, 1H), 9,21-9,09 (м, 2H), 8,74 (с, 1H), 8,21-8,11 (м, 2H), 7,40-7,32 (м, 1H), 7,12 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 6,62 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,73-3,60 (м, 6H), 3,18-3,07 (м, 4H), 3,06-2,98 (м, 2H);

HRMS ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{OS}_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 363,1307, найдено 363,1290. Чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 27: синтез N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (27)



6-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получен согласно методике, описанной в примере 24.

N,N-Диметил-2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин.

К перемешиваемой суспензии 6-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (500 мг, 2,55 ммоль), гидрохлорид 2-хлор-N,N-диметиламина (734 мг, 5,10 ммоль) и бромид тетрабутиламмония (41,1 мг, 0,127 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли 50% водный NaOH (5 мл). Реакционный сосуд затем герметизировали и смесь энергично перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:4:5 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат:дихлорметан, получая при этом требуемый продукт (80 мг, 11,74%) и значительные количества исходного вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,44 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,36 (дд, $J=8,4, 2,4$ Гц, 1H), 7,19 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,69-3,64 (м, 2H), 3,48 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 3,14-3,09 (м, 2H), 2,45 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,22 (с, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 268 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию N,N-диметил-2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанамин (75 мг, 0,281 ммоль) и палладия, 10 мас.%, на активированном угле (29,9 мг, 0,028 ммоль) в этаноле (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 90 мин. В течение этого времени желтый цвет реакционной смеси исчезал. К этой смеси затем добавляли гидроиодид метилтиофен-2-карбимидотиоата (160 мг, 0,561 ммоль) и образовавшуюся суспензию перемешивали на протяжении ночи при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли дихлорметаном и фильтровали для удаления палладия. Органический фильтрат дополнительно разбавляли водой и насыщенным раствором карбоната натрия (1:1). Органический слой отделяли и водный слой снова экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:19 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат, получая при этом требуемый продукт 27 (61 мг, 62,8%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,71 (д, $J=3,3$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,83 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,37 (ушир.с, 2H), 6,17 (с, 1H), 6,08 (д, $J=7, 8$ Гц, 1H), 3,63-3,58 (м, 2H), 3,39-3,32 (м, 2H), 3,01-2,96 (м, 2H), 2,42 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,10 (с, 6H);

ESI-MS (m/z , %): 347 (MH^+ , 100), 276 (74); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+) 347,1358, найдено 347,1349; чистота по ВЭЖХ: 95% площади.

Дигидрохлорид N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

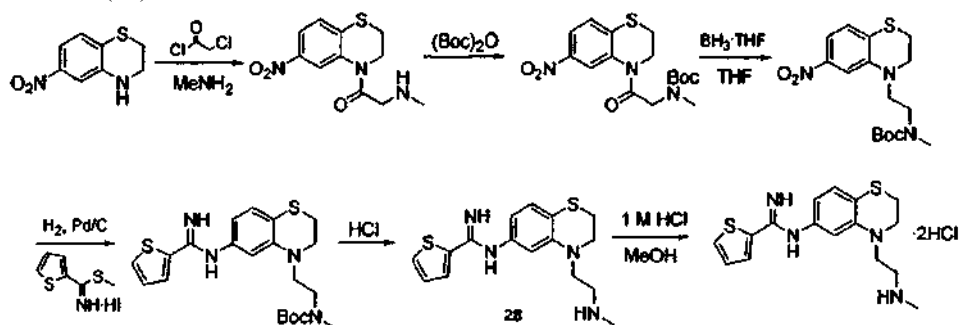
К раствору N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (57 мг, 0,164 ммоль) в метаноле (2 мл) добавляли хлорид водорода (1 М в диэтиловом простом эфире; 0,493 мл, 0,493 ммоль). Образовавшуюся смесь затем концентрировали в вакууме, получая при этом желто-оранжевое твердое вещество (68 мг, 99%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 11,49 (с, 1H), 11,09 (ушир.с, 1H), 9,74 (с, 1H), 8,78 (с, 1H), 8,19-8,12 (м, 2H),

7,39-7,33 (м, 1H), 7,15-7,05 (м, 2H), 6,66-6,60 (м, 1H), 3,79-3,70 (м, 2H), 3,70-3,60 (м, 2H), 3,32-3,21 (м, 2H), 3,16-3,08 (м, 2H), 2,81-2,74 (м, 6H);

HRMS ($C_{17}H_{23}N_4S_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 347,1358, найдено 347,1349. Чистота по ВЭЖХ: 95% площади.

Пример 28: синтез N-(4-(2-(метиламино) этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (28)



6-Нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

Получали согласно методике, описанной в примере 24.

2-(Метиламино)-1-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанон.

К перемешиваемому раствору 6-нитро-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазина (500 мг, 2,55 ммоль) в тетрагидрофуране (4 мл) добавляли 2-хлорацетилхлорид (0,223 мл, 2,80 ммоль).

Образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C в течение 10 мин, после этого времени реакционную смесь охлаждали до 0°C. К смеси затем добавляли метиламин (2 М в тетрагидрофуране; 12,7 мл, 25,4 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь затем разбавляли водой и насыщенным карбонатом натрия, затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:4:5 (2 М NH_3 в метанол:этилацетат:дихлорметанол), получая при этом требуемый продукт (511 мг, 75%) в виде желтого твердого вещества.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,36 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,93 (дд, $J=8,7, 2,4$ Гц, 1H), 7,50 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,93 (т, $J=5,1$ Гц, 2H), 3,48 (с, 2H), 3,34-3,28 (м, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,00 (ушир.с, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 268 (MH^+ , 100).

трет-Бутилметил-(2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

К перемешиваемому раствору 2-(метиламино)-1-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этанона (506,5 мг, 1,895 ммоль) в диоксане (10 мл) и триэтиламине (0,533 мл, 3,79 ммоль) добавляли ди-трет-бутилдикрбонат (434 мг, 1,990 ммоль) и образовавшуюся смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали водой (3×) и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом требуемый продукт (695 мг, 100%) в виде бледной пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,36-8,28 (м, 1H), 7,98-7,92 (м, 1H), 7,56-7,48 (м, 1H), 4,23-4,16 (м, 2H), 3,96-3,88 (м, 2H), 3,33-3,28 (м, 2H), 2,84 (м, 3H), 1,39, 1,30 (2с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 390 ($M+Na$, 100), 368 (MH^+ , 16), 312 (35), 268 (100).

трет-Бутилметил-(2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

К перемешиваемому раствору трет-бутилметил-(2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (691 мг, 1,881 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляли комплекс боран-тетрагидрофуран (1 М в тетрагидрофуране; 5,64 мл, 5,64 ммоль). Образовавшуюся смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и осторожно гасили посредством медленного добавления по каплям метанола (5 мл). Подвергнутую гашению смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали последовательно смесью 1:1 вода:насыщенный карбонат натрия (2×) и затем насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красное масло (659 мг, 99%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,56-7,39 (м, 1H), 7,39-7,31 (м, 1H), 7,24-7,14 (м, 1H), 3,68-3,61 (м, 2H), 3,60-3,49 (м, 2H), 3,48-3,36 (м, 2H), 3,13-3,05 (м, 2H), 2,83 (с, 3H), 1,30, 1,17 (2с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 376 ($M+Na$, 85), 354 (MH^+ , 24), 298 (100).

трет-Бутилметил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

Перемешиваемую суспензию трет-бутилметил-(2-(6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (650 мг, 1,839 ммоль) и палладия, 10 мас.%, на активированном угле (196 мг, 0,184 ммоль), в этаноле (10 мл) перемешивали в атмосфере водорода (давление баллона) при комнатной температуре в течение 2 ч. К смеси затем добавляли гидроиодид метилтиофен-2-карбимидотиоата (787 мг, 2,76 ммоль) и образовавшуюся суспензию перемешивали при комнатной температуре на протяжении

ночи. Смесь фильтровали для удаления палладия, разбавляли водой и насыщенным карбонатом натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 2:3 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (420 мг, 52,8%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,72-7,68 (м, 1H), 7,58 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,09-7,05 (м, 1H), 6,84 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 6,38-6,21 (м, 3H), 6,08 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,64-3,56 (м, 2H), 3,42-3,33 (м, 4H), 3,03-2,94 (м, 2H), 2,81 (с, 3H), 1,36-1,22 (м, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 433 (MH^+ , 100).

N-(4-(2-(Метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

К перемешиваемому раствору трет-бутилметил-(2-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (415 мг, 0,959 ммоль) в метаноле (4 мл) добавляли 3н. раствор HCl (3,198 мл, 9,59 ммоль). Образовавшуюся смесь затем перемешивали при 90°C в течение 1 ч. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой, делали основным 3н. гидроксидом натрия до pH 12 и экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:9 (2 М NH_3 в метаноле):этилацетат, получая при этом требуемый продукт 28 (165 мг, 51,7%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,71 (д, $J=3,0$ Гц, 1H), 7,58 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,82 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 6,34 (ушир.с, 2H), 6,22 (с, 1H), 6,07 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 3,62-3,57 (м, 2H), 3,32 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 3,01-2,97 (м, 2H), 2,64 (т, $J=6,8$ Гц, 1H), 2,29 (с, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 333 (MH^+ , 100), 276 (71); ESI-HRMS: вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+) 333,1202, найдено 333,1207; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

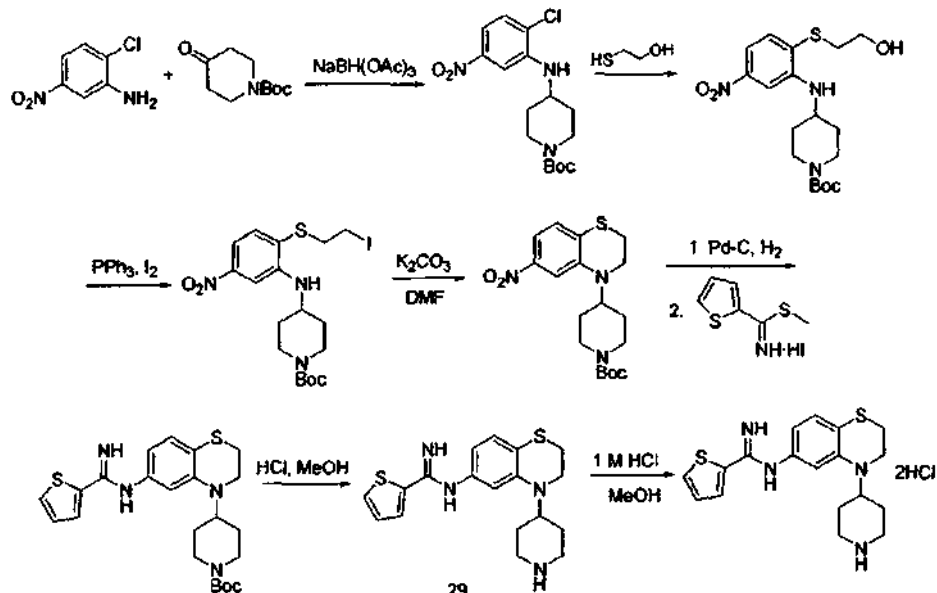
Дигидрохлорид N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

К раствору N-(4-(2-(метиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (158 мг, 0,475 ммоль) в метаноле (3 мл) добавляли хлорид водорода (1 М в диэтиловом простом эфире; 1,426 мл, 1,426 ммоль). Образовавшуюся смесь концентрировали в вакууме, получая при этом желтое твердое вещество (192 мг, 100%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 11,47 (с, 1H), 9,76 (с, 1H), 9,31-9,19 (м, 2H), 8,74 (с, 1H), 8,20-8,11 (м, 2H), 7,39-7,33 (м, 1H), 7,11 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 6,62 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 3,71-3,61 (м, 4H), 3,18-3,04 (м, 4H), 2,58-2,52 (м, 3H);

HRMS ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{S}_2$ (MH^+ , свободное основание)): вычислено 333,1202, найдено 333,1207; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 29: синтез N-(4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (29)



трет-Бутил-4-(2-хлор-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат.

Раствор 2-хлор-5-нитроанилина (1 г, 5,79 ммоль) и трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (2,309 г, 11,59 ммоль) в дихлорэтано (15 мл) и уксусной кислоте (0,995 мл, 17,38 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. После этого времени реакционную смесь обрабатывали триацетоксиборгидридом натрия (3,07 г, 14,49 ммоль) и образовавшуюся смесь перемешивали на протяжении уикенда. Добавляли дополнительные трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилат (2,309 г, 11,59 ммоль), триацетоксиборгидрид натрия (3,07 г, 14,49 ммоль) и дихлорэтан (15 мл). Перемешивание про-

должали в течение 2 дней. Смесь затем разбавляли водой и 1н. гидроксидом натрия (подщелачивали до pH 10) и затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:19 этилацетат:гексаны, получая при этом желто-оранжевую пену (1,26 г, 61,1%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,54 (д, J=8,7 Гц, 1H), 7,51 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,39 (дд, J=8,7, 2,4 Гц, 1H), 5,76-5,63 (м, 1H), 3,99-3,90 (м, 2H), 3,74-3,62 (м, 1H), 3,05-2,80 (м, 2H), 1,89-1,80 (м, 2H), 1,49-1,32 (м, 1H);

ESI-MS (m/z, %): 378 (M+Na, 100), 356 (MH^+ , 40), 300 (62).

трет-Бутил-4-(2-(2-гидроксиэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(2-хлор-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилата (1,25 г, 3,51 ммоль) в ДМФА (10 мл) последовательно добавляли карбонат калия (0,971 г, 7,03 ммоль) и 2-меркаптоэтанол (0,493 мл, 7,03 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C в течение 1 ч, после чего анализ ТСХ (смесь 2:3 этилацетат:гексаны) показал, что реакция была завершена. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали последовательно водой и насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 2:3 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (1,202 г, 86%) в виде оранжевой пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,51 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,43-7,37 (м, 2H), 5,40 (д, J=8,1 Гц, 1H), 5,06 (т, J=5,4 Гц, 1H), 3,95-3,86 (м, 2H), 3,75-3,60 (м, 1H), 3,59-3,50 (м, 2H), 3,01-2,85 (м, 4H), 1,94-1,83 (м, 2H), 1,49-1,29 (м, 1H);

ESI-MS (m/z, %): 420 (M+Na, 22), 342 (100).

трет-Бутил-4-(2-(2-йодэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трифенилфосфина (1,178 г, 4,49 ммоль) и имидазола (0,611 г, 8,98 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) при 0°C добавляли йод (1,292 г, 5,09 ммоль). Образовавшуюся темную смесь перемешивали при 0°C. Спустя 5 мин трет-бутил-4-(2-(2-гидроксиэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат (1,19 г, 2,99 ммоль) добавляли в виде раствора в тетрагидрофуране (5 мл). Смесь затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным раствором карбоната натрия, насыщенным тиосульфатом натрия, водой и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:2 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (1,50 г, 99%) в виде оранжевой пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,59-7,54 (м, 1H), 7,45-7,38 (м, 2H), 5,45-5,37 (м, 1H), 3,98-3,85 (м, 2H), 3,73-3,61 (м, 1H), 3,35-3,27 (м, 5H), 3,19-3,03 (м, 1H), 3,02-2,82 (м, 2H), 1,92-1,84 (м, 2H), 1,45-1,34 (м, 1H);

ESI-MS (m/z, %): 530 (M+Na, 6), 452 (25), 279 (100).

трет-Бутил-4-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(2-(2-йодэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилата (1,49 г, 2,94 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли карбонат калия (0,812 г, 5,87 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч. Реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали последовательно водой и насыщенным раствором карбоната натрия (2×). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:4 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (473 мг, 42,4%) в виде оранжевой пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,57 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,41 (дд, J=8,7, 2,4 Гц, 1H), 7,22 (д, J=8,7 Гц, 1H), 4,09-3,88 (м, 3H), 3,47-3,42 (м, 2H), 3,12-3,08 (м, 2H), 3,01-2,85 (м, 2H), 1,72-1,51 (м, 4H), 1,41 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 402 (M+Na, 95), 380 (MH^+ , 28), 324 (100), 280 (55).

трет-Бутил-4-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

Суспензию трет-бутил-4-(6-нитро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пиперидин-1-карбоксилата (468 мг, 1,233 ммоль) и палладия, 10 мас.%, на активированном угле (131 мг, 0,123 ммоль), в этаноле (10 мл) и тетрагидрофуране (1 мл) перемешивали в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 2 ч. В течение этого времени реакционная смесь становилась бесцветной. К смеси затем добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (528 мг, 1,850 ммоль) и образовавшуюся суспензию перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь затем разбавляли этилацетатом и фильтровали через подушку целита. Фильтрат промывали насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:5 этилацетат:дихлорметан, получая при этом требуемый продукт (403 мг, 71,2%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,72 (д, J=3,0 Гц, 1H), 7,59 (д, J=5, 1 Гц, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,86 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,42-6,28 (м, 3H), 6,13 (д, J=8,1 Гц, 1H), 4,06-3,95 (м, 2H), 3,85-3,76 (м, 1H), 3,40-3,33 (м, 2H), 2,99-2,93 (м, 2H), 2,92-2,75 (м, 2H), 1,69-1,48 (м, 4H), 1,39 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 459 (MH^+ , 100).

N-(4-(Пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[b][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пиперидин-1-карбоксилата (398 мг, 0,868 ммоль) в MeOH (6 мл) добавляли 3 М водный хлорид водорода (2,893 мл, 8,68 ммоль). Образовавшийся раствор перемешивали при 90°C в

течение 45 мин. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, делали основной (pH 12) насыщенным карбонатом натрия и затем экстрагировали дихлорметаном (3×). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:6 (2 М NH₃ в MeOH):этилацетат, получая при этом требуемый продукт 29 (216 мг, 69,4%) в виде бледно-желтой пены.

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,71 (д, J=2,7 Гц, 1H), 7,59 (д, J=4,8 Гц, 1H), 7,08 (дд, J=5,1, 3,6 Гц, 1H), 6,86 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,37 (ушир.с, 2H), 6,26 (с, 1H), 6,13-6,08 (м, 1H), 3,68-3,52 (м, 1H), 3,43-3,38 (м, 2H), 3,01-2,93 (м, 4H), 2,61-2,51 (м, 2H), 1,64-1,52 (м, 4H);

ESI-MS (m/z, %): 359 (MH⁺, 100); ESI-HRMS: вычислено для C₁₈H₂₃N₄S₂ (MH⁺) 359,1358, найдено 359,1351; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

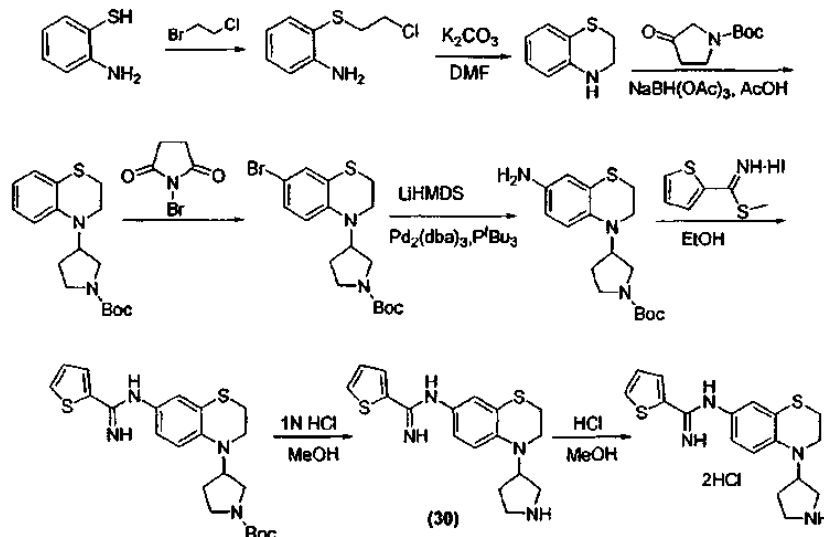
Дигидрохлорид N-(4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

К раствору N-(4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (210 мг, 0,586 ммоль) в метаноле (4 мл) добавляли хлорид водорода (1 М раствор в диэтиловом простом эфире; 1,757 мл, 1,757 ммоль). Образовавшийся раствор концентрировали в вакууме, получая при этом бледно-желтое твердое вещество (252 мг, 100%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 11,45 (с, 1H), 9,76 (с, 1H), 9,22 (с, 2H), 8,75 (с, 1H), 7,40-7,34 (м, 1H), 7,13 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,02 (с, 1H), 6,64 (д, J=8,1 Гц, 1H), 4,02-3,92 (м, 1H), 3,46-3,39 (м, 2H), 3,37-3,26 (м, 2H), 3,12-2,91 (м, 4H), 2,15-1,98 (м, 2H), 1,86-1,78 (м, 2H);

HRMS (C₁₈H₂₃N₄S₂ (MH⁺, свободное основание)): вычислено 359,1358, найдено 359,1351; чистота по ВЭЖХ: 97% площади.

Пример 30: синтез N-(4-(пирролидин-3-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (30)



2-(2-Хлорэтилтио)анилин.

К перемешиваемому раствору 2-аминобензолтиола (0,513 мл, 4,79 ммоль) в этаноле (5 мл) добавляли гидроксид натрия (192 мг, 4,79 ммоль) в виде раствора в воде (5,00 мл). К образовавшейся смеси добавляли 1-бromo-2-хлорэтан (1,197 мл, 14,38 ммоль) и образовавшуюся смесь энергично перемешивали в течение 20 мин. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом желтую жидкость, 2-(2-хлорэтилтио)анилин (875 мг, 97%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 7,27 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,10-7,04 (м, 1H), 6,73 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,56-6,49 (м, 1H), 5,41 (ушир.с, 2H), 3,62 (т, J=7,4 Гц, 2H), 3,02 (т, J=7,4 Гц, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 188 (MH⁺, 100).

3,4-Дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин.

К перемешиваемому раствору 2-(2-хлорэтилтио)анилина (850 мг, 4,53 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли карбонат калия (1878 мг, 13,59 ммоль) с последующим добавлением иодида натрия (67,9 мг, 0,453 ммоль). Образовавшуюся смесь нагревали до 90°C и перемешивали на протяжении ночи. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и промывали водой (3×) и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 9:1 гексаны:этилацетат, получая при этом оранжевое масло (675 мг, 99%).

¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 6,85-6,75 (м, 2H), 6,51-6,39 (м, 2H), 6,00 (ушир.с, 1H), 3,49-3,44 (м, 2H), 2,98-2,93 (м, 2H);

ESI-MS (m/z, %): 152 (MH⁺, 100), 124 (44).

трет-Бутил-3-(2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилат.

Смесь 3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазина (1,00 г, 6,61 ммоль), N-вос-3-пирролидинона (1,34 г, 7,27 ммоль) и уксусной кислоты (0,94 мл, 16,52 ммоль) в 1,2-дихлорэтано (20 мл) охлаждали до 0°C и затем обрабатывали твердым триацетоксиборгидридом натрия (2,10 г, 9,92 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 11 ч. К реакционной смеси добавляли дополнительные эквиваленты каждого из триацетоксиборгидрида натрия (1,40 г, 6,61 ммоль) и N-вос-3-пирролидинона (1,22 г, 6,61 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение более 2 дней и затем гасили 3н. NaOH (50 мл). Смесь переносили в делительную воронку и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na₂SO₄). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (10% смесь EtOAc/гексаны, затем 20% смесь EtOAc/гексаны). Образец подвергали дополнительной флэш-хроматографии на силикагеле (7,5-15% EtOAc/гексаны), получая при этом вязкое масло (0,41 г, 19%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,08 (дд, J=0,9, 7,5 Гц, 1H), 7,04-6,99 (м, 1H), 6,77 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,67-6,72 (м, 1H), 4,39-4,36 (м, 1H), 3,73-3,72 (м, 6H), 3,10-3,06 (м, 2H), 2,20-2,00 (м, 2H), 1,47 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 345, 343 (M+Na, 4), 322, 320 (MH⁺, 3), 267, 265 (100).

трет-Бутил-3-(7-бром-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилат.

Раствор трет-бутил-3-(2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилата (0,41 г, 1,302 ммоль) в ДМФА (5 мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали по каплям N-бромсукцинимидом (0,17 г, 0,977 ммоль) в ДМФА (5 мл) в течение 15 мин. Реакционную смесь выдерживали при 0°C и перемешивали в течение 1 ч при такой температуре. В это время к реакционной смеси по каплям добавляли N-бромсукцинимид (0,023 г, 0,130 ммоль) в ДМФА (1 мл) и смесь затем перемешивали в течение 1 ч при 0°C. Раствор снова обрабатывали N-бромсукцинимидом (0,023 г, 0,130 ммоль) в ДМФА (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при 0°C. Раствор разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Водную фазу промывали один раз EtOAc (50 мл). Органические растворы объединяли, промывали водой (100 мл) и насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na₂SO₄). Сырое вещество фильтровали через подушку диоксида кремния (20% смесь EtOAc/гексаны) и концентрировали, получая при этом прозрачное масло (0,47 г, 90%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,18 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,07 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,62 (д, J=8,7 Гц, 1H), 4,34-4,28 (м, 1H), 3,71-3,23 (м, 6H), 3,03-3,04 (м, 2H), 2,19-1,95 (м, 2H), 1,47 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 423, 421 (M+Na, 8), 401, 399 (MH⁺, 2), 343, 345 (100).

трет-Бутил-3-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилат.

трис-(Дибензилиденацетон)дипалладий(0) (0,056 г, 0,062 ммоль) в ТГФ (3 мл) обрабатывали 10 мас.% раствором три-трет-бутилфосфина в гексанах (0,748 мл, 0,247 ммоль) и смесь энергично перемешивали в атмосфере аргона в течение 10 мин. К смеси добавляли трет-бутил-3-(7-бром-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилат (0,49 г, 1,233 ммоль) в ТГФ (9 мл) и 1 М LiHMDS в ТГФ (3,70 мл, 3,70 ммоль). Реакционную смесь герметизировали, помещали на предварительно нагретую баню и кипятили с обратным холодильником при 100°C. Раствор охлаждали до комнатной температуры, обрабатывали 1 М TBAF в ТГФ (8 мл) и перемешивали в течение 40 мин. Смесь концентрировали и обрабатывали 1н. NaOH (50 мл). Смесь переносили в делительную воронку, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na₂SO₄). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (25-70% EtOAc/гексаны). Собранные фракции концентрировали, получая при этом прозрачное коричневое масло (0,34 г, 83%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 6,64 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,48 (с, 1H), 6,39 (ушир.с, 1H), 4,08-4,02 (м, 1H), 3,70-3,07 (м, 6H), 3,09-3,07 (м, 2H), 2,08-1,92 (м, 2H), 1,46 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 338, 336 (MH⁺, 40), 282, 280 (100).

трет-Бутил-3-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилат.

Гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,53 г, 1,874 ммоль) добавляли к смеси трет-бутил-3-(7-амино-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилата (0,31 г, 0,937 ммоль) в EtOH (20 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия (50 мл). Раствор затем переносили в делительную воронку, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂ (2×50 мл). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (50-90% EtOAc/гексаны). Концентрированные фракции давали желтое масло (0,29 г, 69%).

¹H ЯМР (CDCl₃) δ 7,41 (дд, J=0,9, 5,1 Гц, 1H), 7,38 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,06 (дд, J=3,9, 4,9 Гц, 1H), 6,79-6,76 (м, 2H), 6,68-6,66 (м, 1H), 4,84 (ушир.с, 2H), 4,35-4,23 (м, 1H), 3,74-3,22 (м, 6H), 3,12-3,07 (м, 2H), 2,19-1,99 (м, 2H), 1,47 (с, 9H);

ESI-MS (m/z, %): 447,445 (MH⁺, 100).

N-(4-(Пирролидин-3-ил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Раствор трет-бутил-3-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пирролидин-1-карбоксилата (0,24 г, 0,554 ммоль) в MeOH (5 мл) обрабатывали 1н. раствором HCl

(9,98 мл, 9,98 ммоль) при комнатной температуре. Образовавшуюся смесь кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин и охлаждали до комнатной температуры. Смесь фильтровали и гасили 1н. NaOH (10 мл). Смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (2×50 мл). Органическую фазу промывали насыщенным раствором соли (50 мл) и сушили (Na_2SO_4). Сырое вещество подвергали флэш-хроматографии на силикагеле (5-20% смесь 2 М NH_3 в $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$). Собранные фракции давали соединение 30 в виде желтой пены (0,15 г, 79%).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 7,69 (д, $J=3,0$ Гц, 1H), 7,56 (дд, $J=0,9, 4,9$ Гц, 1H), 7,07 (дд, $J=3,9, 4,9$ Гц, 1H), 6,79 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 6,52-6,49 (м, 2H), 6,31 (ушир.с, 2H), 4,26-4,17 (м, 1H), 3,42-3,22 (м, 2H), 3,10-2,90 (м, 4H), 2,83-2,69 (м, 2H), 2,07-1,96 (м, 1H), 1,68-1,57 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 347, 345 (MH^+ , 72), 278, 276 (100).

Дигидрохлорид N-(4-(пирролидин-3-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

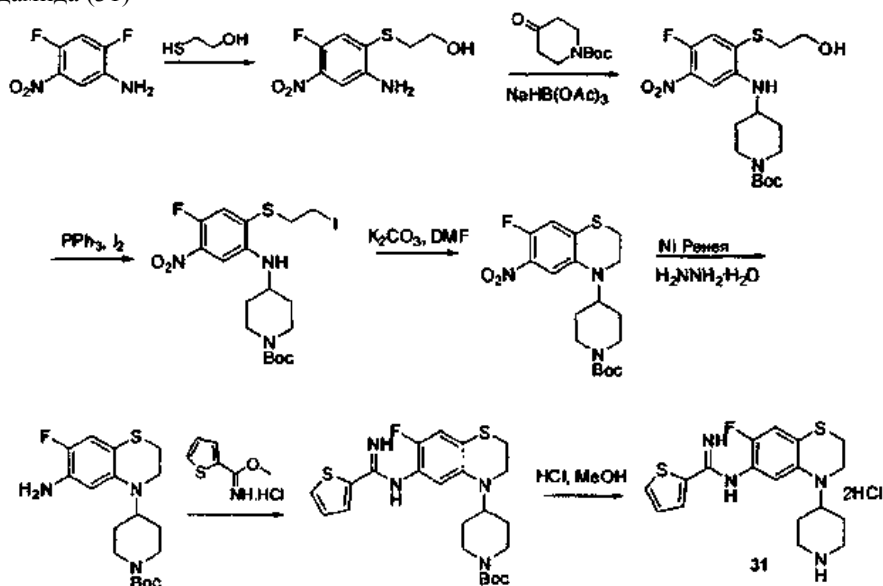
N-(4-(Пирролидин-3-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид (0,1264 г, 0,367 ммоль) в MeOH (3 мл) обрабатывали 1 М HCl в эфире (1,835 мл, 1,835 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин и концентрировали, получая при этом бледно-желтое твердое вещество (0,16 г, количественный выход).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 11,30 (с, 1H), 9,83 (ушир.с, 1H), 9,70 (с, 1H), 9,57 (ушир.с, 1H), 8,70 (с, 1H), 8,15-8,13 (м, 2H), 7,37-7,34 (м, 1H), 7,10-7,00 (м, 3H), 4,74-4,63 (м, 1H), 3,60-3,40 (м, 5H), 3,16-3,05 (м, 3H), 2,26-2,15 (м, 1H), 2,05-1,92 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 347, 345 (MH^+ свободное основание, 61), 278, 276 (100);

HRMS ($\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{S}_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 345,1202, найдено 345,1195. Чистота по ВЭЖХ: 99% площади.

Пример 31: синтез N-(7-фтор-4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (31)



2-(2-Амино-5-фтор-4-нитрофенилтио)этанол.

К перемешиваемой суспензии 2,4-дифтор-5-нитроанилина (100 мг, 0,574 ммоль) и карбоната калия (159 мг, 1,149 ммоль) в ДМФА (1 мл) добавляли 2-меркаптоэтанол (0,081 мл, 1,149 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали, получая при этом основной продукт. Затем в качестве элюента применяли этилацетат, получая при этом меньший продукт. Определили, что основной продукт является требуемым продуктом (112 мг, 84%).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 7,32 (д, $J=3,5$ Гц, 1H), 7,27 (д, $J=10,7$ Гц, 1H), 4,39 (с, 2H), 3,85-3,76 (м, 2H), 3,16-3,08 (м, 2H), 2,13-2,05 (м, 1H);

ESI-MS (m/z , %): 233 (MH^+ , 100), 215 (14), 187 (100), 129 (65).

трет-Бутил-4-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору 2-(2-амино-5-фтор-4-нитрофенилтио)этанола (434 мг, 1,869 ммоль) и трет-бутил 4-оксопиперидин-1-карбоксилата (372 мг, 1,869 ммоль) в дихлорэтаноле (10 мл) и уксусной кислоте (0,321 мл, 5,61 ммоль) добавляли триацетоксиборгидрид натрия (594 мг, 2,80 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре. Спустя 1 ч добавляли дополнительный трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилат (372 мг, 1,869 ммоль) с последующим дополнительным добавлением триацетоксиборгидрида натрия (594 мг, 2,80 ммоль). После дополнительных 3 ч добавляли еще

трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилат (372 мг, 1,869 ммоль), затем еще триацетоксиборгидрид натрия (594 мг, 2,80 ммоль). Реакционную смесь перемешивали на протяжении ночи. Смесь затем гасили 1н. NaOH (10 мл), водой (20 мл) и насыщенным карбонатом натрия (20 мл). Органические продукты затем экстрагировали дихлорметаном (3×20 мл). Объединенные органические слои сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали с применением смеси 1:3 этилацетат:гексаны на силикагеле, получая при этом требуемый продукт (710 мг, 91%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,45 (д, $J=12,0$ Гц, 1H), 7,23 (д, $J=6$, 6 Гц, 1H), 5,08 (т, $J=5,4$ Гц, 1H), 5,02 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 3,96-3,84 (м, 2H), 3,69-3,55 (м, 5H), 2,99-2,83 (м, 2H), 1,92-1,83 (м, 2H), 1,45-1,18 (м, 11H);

ESI-MS (m/z , %): 360 (100), 128 (30).

трет-Бутил-4-(4-фтор-2-(2-йодэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трифенилфосфина (668 мг, 2,55 ммоль) и имидазола (0,693 мл, 5,09 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл), охлажденном до 0°C , добавляли йод (732 мг, 2,88 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 0°C в течение 5 мин. К этой смеси затем добавляли трет-бутил-4-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилат (705 мг, 1,697 ммоль) в виде раствора в тетрагидрофуране (5 мл) и образовавшуюся смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия, водой, насыщенным тиосульфатом натрия и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали в смеси 1:9 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (398 мг, 44,6%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,53 (д, $J=11,7$ Гц, 1H), 7,27 (д, $J=6,6$ Гц, 1H), 5,10 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 3,96-3,85 (м, 2H), 3,64-3,52 (м, 1H), 3,50-3,41 (м, 2H), 3,39-3,32 (м, 2H), 2,99-2,81 (м, 2H), 1,91-1,81 (м, 2H), 1,48-1,32 (м, 11H);

ESI-MS (m/z , %): 470 (100), 426 (81).

трет-Бутил-4-(7-фтор-6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(4-фтор-2-(2-йодэтилтио)-5-нитрофениламино)пиперидин-1-карбоксилата (394 мг, 0,750 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли карбонат калия (207 мг, 1,500 ммоль) и образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч и затем при 90°C на протяжении ночи. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3×), водой и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали, концентрировали и затем хроматографировали с применением смеси 1:9 этилацетат:гексаны, получая при этом требуемый продукт (193 мг, 64,7%) в виде красной пены.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 7,42 (д, $J=6,6$ Гц, 1H), 7,30 (д, $J=11,7$ Гц, 1H), 4,10-3,95 (м, 2H), 3,91-3,79 (м, 1H), 3,41-3,36 (м, 2H), 3,13-3,09 (м, 2H), 2,99-2,78 (м, 2H), 1,73-1,63 (м, 2H), 1,63-1,51 (м, 2H), 1,41 (с, 9H); ESI-MS (m/z , %): 420 (MNa^+ , 52), 398 (MH^+ , 35), 342 (100), 298 (64).

трет-Бутил-4-(6-амино-7-фтор-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(7-фтор-6-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пиперидин-1-карбоксилата (190 мг, 0,478 ммоль) в тетрагидрофуране (3,00 мл) добавляли никель Ренея (28,1 мг, 0,478 ммоль) в виде суспензии в метаноле (3 мл). К этой смеси затем добавляли гидразин-гидрат (0,233 мл, 4,78 ммоль) и образовавшуюся смесь перемешивали при 60°C в течение 8 мин. В течение этого времени реакционная смесь становилась светло-красной. Смесь затем разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (2×), водой (2×) и насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали, получая при этом красное масло (172 мг, 98%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 6,61 (д, $J=11,1$ Гц, 1H), 6,34 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 4,76 (с, 2H), 4,11-4,01 (м, 2H), 3,62-3,51 (м, 1H), 3,29-3,25 (м, 2H), 2,93-2,88 (м, 2H), 2,87-2,69 (м, 2H), 1,71-1,61 (м, 2H), 1,59-1,48 (м, 2H), 1,40 (м, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 368 (MH^+ , 25), 312 (100).

трет-Бутил-4-(7-фтор-6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пиперидин-1-карбоксилат.

К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(6-амино-7-фтор-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)пиперидин-1-карбоксилата (168 мг, 0,457 ммоль) в этаноле (5 мл) и триэтиламин (0,643 мл, 4,57 ммоль) добавляли гидрохлорид метилтиофен-2-карбимидата (325 мг, 1,829 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 65°C на протяжении уикенда. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом и промывали насыщенным карбонатом натрия (3×). Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали и хроматографировали в смеси 1:9 этилацетат:гексаны, получая при этом желтое масло (18 мг, 8,26%).

^1H ЯМР ($\text{MeOD}-d_4$) δ 7,65-7,61 (м, 1H), 7,59-7,54 (м, 1H), 7,14-7,08 (м, 1H), 6,79 (д, $J=10,5$ Гц, 1H), 6,49 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 4,22-4,12 (м, 2H), 3,80-3,67 (м, 1H), 3,43-3,38 (м, 2H), 3,05-3,01 (м, 2H), 2,96-2,79 (м, 2H), 1,83-1,73 (м, 2H), 1,72-1,57 (м, 2H), 1,46 (с, 9H);

ESI-MS (m/z , %): 477 (MH^+ , 100).

Дигидрохлорид N-(7-фтор-4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-6-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

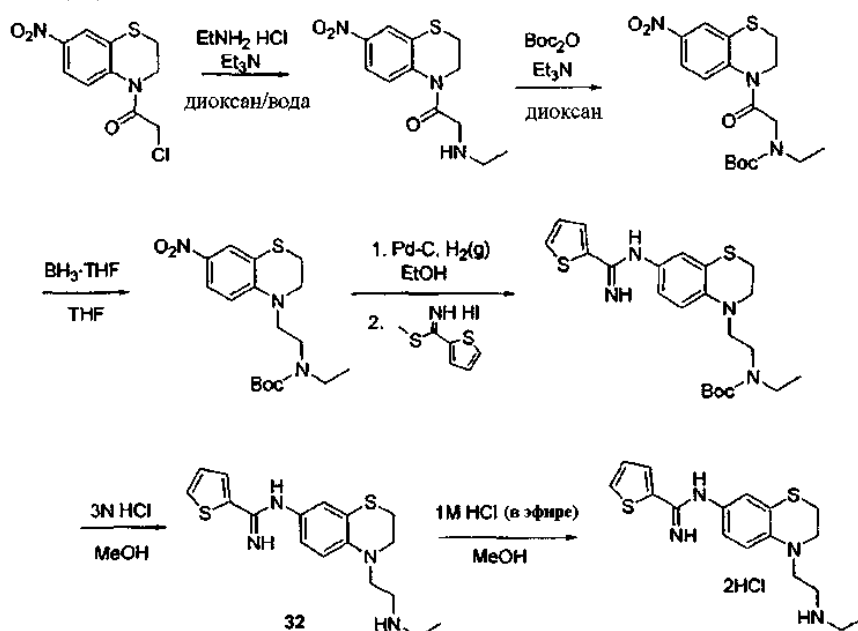
К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(7-фтор-6-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)пиперидин-1-карбоксилата (16 мг, 0,034 ммоль) в метаноле (1 мл) добавляли 1 каплю концентрированной хлористо-водородной кислоты. Образовавшуюся смесь нагревали при 70°C в течение 1 ч. Смесь затем охлаждали до комнатной температуры и разбавляли диэтиловым простым эфиром (4 мл). Образовавшийся бледный осадок собирали при помощи вакуумного фильтрования, получая при этом требуемый продукт 31 в виде дигидрохлоридной соли (8 мг, 53,0%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 11,35 (с, 1H), 9,92 (с, 1H), 8,96 (с, 1H), 8,57-8,51 (м, 2H), 8,25-8,10 (м, 2H), 7,40 (с, 1H), 7,24-7,15 (м, 1H), 7,05-6,99 (м, 1H), 3,96-3,83 (м, 1H), 3,45-3,20 (м, 2H), 3,18-3,09 (м, 2H), 3,09-2,91 (м, 2H), 2,02-1,87 (м, 2H), 1,87-1,75 (м, 2H).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 + D_2O) δ 8,16-8,09 (м, 1H), 8,08-8,01 (м, 1H), 7,39-7,33 (м, 1H), 7,14 (д, $J=10,5$ Гц, 1H), 6,95-6,88 (м, 1H), 3,91-3,80 (м, 1H), 3,39-3,29 (м, 4H), 3,11-3,05 (м, 2H), 3,05-2,91 (м, 2H), 1,90-1,78 (м, 4H);

ESI-MS (m/z , %): 377 (MH^+ , свободное основание, 50), 294 (100); ESI-HRMS ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{FS}_2$, MH^+ , свободное основание): вычислено 377,1264, найдено 377,1263.

Пример 32: синтез N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (32)



2-Хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанол.

Получен согласно методике, описанной в примере 18.

2-(Этиламино)-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанол.

Раствор 2-хлор-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (1,5 г, 5,50 ммоль) в диоксане (15 мл) и триэтилаmine (1,533 мл, 11,00 ммоль) обрабатывали раствором гидрохлорида этанамина (2,243 г, 27,5 ммоль) в воде (7,5 мл). Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч). После этого времени реакционную смесь разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали дихлорметаном (3×30 мл). Объединенный органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (смесь 1:1 этилацетат:гексаны, затем 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом коричневое твердое вещество (0,56 г, 36,2%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,10 (д, $J=5,1$ Гц, 1H), 7,92 (дд, $J=2,4, 9,0$ Гц, 1H), 7,70 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 3,94 (т, $J=5,1$ Гц, 2H), 3,52 (с, 2H), 3,33-3,28 (м, 2H), 2,55-2,52 (м, 2H), 0,98 (т, $J=6,9$ Гц, 3H);

ESI-MS (m/z , %): 282 (MH^+ , 100%).

трет-Бутилэтил-(2-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)-2-оксоэтил)карбамат.

Раствор 2-(этиламино)-1-(7-нитро-2Н-бензо[*b*][1,4]тиазин-4(3Н)-ил)этанола (0,56 г, 1,991 ммоль) в безводном диоксане (10 мл) и триэтилаmine (0,555 мл, 3,98 ммоль) обрабатывали ди-трет-бутилкарбонатом (0,478 г, 2,190 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение полу-часа. Реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом (50 мл) и промывали водой (50 мл) и насыщенным раствором соли (3×15 мл). Органический слой сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали, получая при этом коричневый сироп (0,803 г, 100%).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 8,13-8,11 (м, 1H), 7,97-7,91 (м, 1H), 7,71 (д, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,18-4,16 (м, 2H),

3,95-3,92 (м, 2H), 3,28-3,19 (м, 4H), 1,38, 1,29 (2×с, 9H), 1,05-1,02 (м, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 404 (M+Na, 42%), 382 (MH⁺, 17%), 282 (100%).

трет-Бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

Раствор трет-бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)-2-оксоэтил)карбамата (0,8 г, 2,097 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (5 мл) обрабатывали комплексом боран-ТГФ (1 М в ТГФ; 6,29 мл, 6,29 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили добавлением по каплям метанола (10 мл) и затем концентрировали. Сырой остаток разбавляли метанолом (25 мл) и кипятили с обратным холодильником в течение 10 мин. Смесь затем концентрировали и остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (1:9-3:7 EtOAc:CH₂Cl₂), получая при этом желтый сироп (0,493 г, 64%).

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,85-7,78 (м, 2H), 6,94-6,85 (м, 1H), 3,76-3,79 (м, 2H), 3,62-3,57 (м, 2H), 3,37-3,33 (м, 2H), 3,22-3,19 (м, 2H), 3,08-3,04 (м, 2H), 1,35 и 1,30 (2 х ушир.с, 9H), 1,03 (т, J=6,9 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 390 (M+Na, 67%), 368 (MH⁺, 17%), 312 (83%), 268 (100%).

трет-Бутилэтил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамат.

Суспензию палладия-на-угле (10 мас.%; 0,142 г, 0,133 ммоль) и трет-бутилэтил-(2-(7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (0,49 г, 1,333 ммоль) в сухом этаноле (15 мл) перемешивали в атмосфере газообразного водорода (давление баллона) в течение 3 ч. Реакционную смесь затем помещали в атмосферу аргона, добавляли гидроидид метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,761 г, 2,67 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи (16 ч). Смесь выливали на целит и целит промывали метанолом. Фильтрат концентрировали и подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (смесь 1:1 EtOAc:гексаны, затем 5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом твердое вещество (0,4 г, 67,2%).

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,69 (ушир.д, J=3,3 Гц, 1H), 7,57 (дд, J=1,2, 5,2 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=3,6, 4,8 Гц, 1H), 6,81-6,74 (м, 1H), 6,49-6,46 (м, 2H), 6,31 (ушир.с, 2H), 3,59-3,54 (м, 2H), 3,36-3,31 (перекрывание с пиком растворителя м, 4H), 3,23-3,20 (м, 2H), 3,03-3,00 (м, 2H), 1,41 (с, 9H), 1,04 (т, J=6,9 Гц, 3H);

ESI-MS (m/z, %): 447 (MH⁺, 100%).

N-(4-(2-(Этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Раствор трет-бутилэтил-(2-(7-(тиофен-2-карбоксимидамидо)-2H-бензо[b][1,4]тиазин-4(3H)-ил)этил)карбамата (0,4 г, 0,896 ммоль) в метаноле (10 мл) обрабатывали 3н. HCl (3,88 мл, 11,64 ммоль) и перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1,5 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (20 мл) и подщелачивали 1н. NaOH. Продукт экстрагировали дихлорметаном (2×25 мл). Объединенный органический слой сушили (Na₂SO₄) и концентрировали. Сырое вещество подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (5:95 (2 М NH₃ в MeOH):CH₂Cl₂), получая при этом желтое твердое вещество (0,142 г, 45,8%).

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 7,69 (дд, J=0,9, 3,6 Гц, 1H), 7,56 (д, J=5,1 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=3,6, 4,8 Гц, 1H), 6,72 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,49 (дд, J=2,1, 8,4 Гц, 1H), 6,45 (д, J=2,1 Гц, 1H), 6,31 (ушир.с, 2H), 3,55-3,51 (м, 2H), 3,30-3,24 (м, 2H), 3,04-3,00 (м, 2H), 2,62 (т, J=6,9 Гц, 2H), 2,56 (кв., J=7,2 Гц, 2H), 1,01 (т, J=7,2 Гц, 3H);

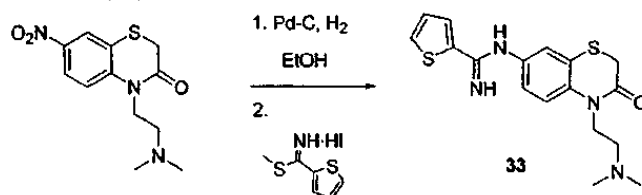
ESI-MS (m/z, %): 347 (MH⁺, 75%), 276 (100%); чистота по ВЭЖХ 99,5% площади.

Дигидрохлорид N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида.

Раствор N-(4-(2-(этиламино)этил)-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (0,142 г, 0,410 ммоль) в сухом метаноле (5 мл) обрабатывали хлористо-водородной кислотой (1 М в простом эфире; 2,049 мл, 2,049 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь затем концентрировали, получая при этом желтое твердое вещество.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 11,22 (ушир.с, 1H) 9,68 (ушир.с, 1H), 9,32 (ушир.с, 2H), 8,69 (ушир.с, 1H), 8,15-8,11 (м, 2H), 7,36 (псевдо т, J=7,2 Гц, 1H), 7,06-6,99 (м, 3H), 3,70-3,60 (перекрывание с пиком растворителя, м, 4H), 3,12-3,02 (м, 4H), 3,02-2,93 (м, 2H), 1,23 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Пример 33: синтез N-(4-(2-(диметиламино)этил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамида (33)



4-(2-(Диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-3(4H)-он.

Получен согласно методике, описанной в примере 8.

N-(4-(2-(Диметиламино)этил)-3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-7-ил)тиофен-2-карбоксимидамид.

Суспензию 4-(2-(диметиламино)этил)-7-нитро-2H-бензо[b][1,4]тиазин-3(4H)-она (0,3 г, 1,066 ммоль) и палладия-на-угле (10 мас.%, 0,113 г, 0,107 ммоль) в сухом этаноле (10 мл) перемешивали в атмосфере водорода (давление баллона) в течение 2 ч. Смесь пропускали через подушку целита и целит промывали этанолом. Фильтрат обрабатывали гидроидом метилтиофен-2-карбимидотиоата (0,608 г, 2,133 ммоль) и эту реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней. Растворитель выпаривали и остаток распределяли между дихлорметаном (50 мл) и насыщенным раствором бикарбоната натрия (25 мл), перемешивая в течение получаса. Смесь затем переносили в делительную воронку и водный слой удаляли. Органический слой сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (2,5:97,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , затем 5:95 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2 , затем 7,5:92,5 (2 М NH_3 в MeOH): CH_2Cl_2), получая при этом желтое твердое вещество (0,117 г, 30,4%).

^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 7,75 (ушир.д, J=3,0 Гц, 1H), 7,61 (дд, J=0, 9, 5,1 Гц, 1H), 7,28 (д, J=8,7 Гц, 1H), 7,09 (дд, J=3,6, 4,8 Гц, 1H), 6,85 (ушир.д, J=1,8 Гц, 1H), 6,79 (дд, J=1,5, 8,4 Гц, 1H), 6,58 (ушир.с, 2H), 4,00 (т, 6,9 Гц, 2H), 3,44 (с, 2H), 2,41 (т, J=9,0 Гц, 2H), 2,19 (с, 6H).

Пример 34: анализ ферментов nNOS (человека), eNOS (человека) и iNOS (человека).

Анализ iNOS человека проводили любым одним из двух протоколов, описываемых ниже контексте. Протокол 1.

Рекомбинатную индуцируемую человеком NOS (iNOS) продуцировали в инфицированных бакуловиром клетках Sf9 (ALEXIS). В радиометрическом способе активность NO-синтазы определяли измерением превращения [^3H]-L-аргинина в [^3H]-L-цитруллин. Для измерения iNOS 10 мкл фермента добавляли к 100 мкл 100 мМ HEPES, pH 7,4, содержащей 1 мМ CaCl_2 , 1 мМ EDTA, 1 мМ дитиотреитол, 1 мкМ FMN, 1 мкМ FAD, 10 мкМ тетрагидробиоптерин, 120 мкМ NADPH и 100 нМ CaM.

Для измерения ингибирования фермента 15 мкл раствора испытуемого вещества добавляли к раствору для анализа фермента с последующей предварительной инкубацией в течение 15 мин при к.т. Реакцию инициировали добавлением 20 мкл L-аргинина, содержащего 0,25 мКи [^3H]-аргинина/мл, и 24 мкМ L-аргинина. Общий объем реакционной смеси был 150 мкл в каждой лунке. Реакции проводили при 37°C в течение 45 мин. Реакцию останавливали добавлением 20 мкл охлажденного льдом буфера, содержащего 100 мМ HEPES, 3 мМ EGTA, 3 мМ EDTA, pH 5,5. [^3H]-L-цитруллин отделяли DOWEX (ионообменная смола DOWEX 50 W $\times$ 8-400, SIGMA) и DOWEX удаляли центрифугированием при 12000 g в течение 10 мин в центрифуге. Аликвоту (70 мкл) супернатанта добавляли к 100 мкл сцинтилляционной жидкости и радиоактивность (число импульсов) в образцах определяли в сцинтилляционном счетчике (1450 Microbeta Jet, Wallac). Специфическую активность NOS представляли как разность между активностью, полученной с испытуемым раствором, и активностью, наблюдаемой в контрольном образце, содержащем 240 мМ ингибитора L-NMMA. Все анализы проводили по меньшей мере в двух повторностях. Стандартные отклонения составляют 10% или меньше. Эти результаты показывают селективность соединений изобретения в отношении ингибирования nNOS. Результаты примерных соединений изобретения показаны также в табл. 2.

Протокол 2	
Реагенты и вещества:	
Фермент	(Оксид азота)-синтаза (индуцируемая, человеческая рекомбинантная) iNOS II, Cat. № ALX-201-060, Axhoxa LLC, CA 92121, USA
L-NMMA	Дигидрохлорид N ⁶ -монометил-L-аргинина, Cat # M7033, Sigma Aldrich
Буфер для реакции	50 мМ Трис-HCl (pH 7,4), Cat. № 93313, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO 6 мкМ дигидрохлорид тетрагидробиоптерина (BH ₄), Cat № T4425, Sigma 2 мкМ флавинадениндинуклеотид (FAD), Cat. № F6625, Sigma 2 мкМ флавинаденинмононуклеотид (FMN), Cat. № F8399, Sigma
Буфер для остановки реакции	50 мМ N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота (HEPES) (pH 5,5), H7523, Sigma и 5 мМ этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), Cat. № EDS, Sigma
NADPH	12 мМ, полученный в 10 мМ Трис-HCl (pH 7,4), Cat. № N7505, Sigma
Калмодулин	1 мкМ, Cat. № P2277, Sigma
[³ H]-L-аргинин	1 мкКи/реакцию, 40-70 Ки/ммоль, Cat. № TRK-698, Amersham Biosciences
L-аргинин	2,5 мкМ (конечная концентрация при анализе), Cat. № A5131, Sigma
Уравновешенная смола	Смола AG-50W X8 в буфере HEPES (pH 5,5), Cat. № 1421441, Bio-Rad Laboratories Ltd.
Чашки для центрифугирования	Cat. № C8163, Fisher Scientific
Микробета	Wallac Microbeta Trilux, Perkin Elmer
Сцинтилляционная жидкость	Optiphase Supermix, Cat. № 1200-439, Perkin Elmer
Термостат	Lab-Line Enviro Shaker
Микроцентрифуга	Mikro 20

Методика.

Первичные исходные растворы каждого испытуемого соединения получали в дистиллированной воде в день изучения для получения конечной концентрации 6 мМ. Для определения величин IC₅₀ 11 концентраций испытуемого соединения получали посредством 3-кратного серийного разведения. Испытуемые соединения испытывали в анализе iNOS при концентрации от 1000 мкМ до 0,0169 мкМ. Наполнитель для испытуемого соединения или ингибитора, дистиллированную воду, можно применять в качестве контроля (слепого опыта). Для определения неспецифической активности параллельно в качестве контроля выполняли опыт с 100 мкМ L-NMMA.

Все инкубации проводили в двух повторностях.

Реакционную смесь получали на льду добавлением следующих компонентов в подходящую лунку 1,0 мл 96-луночного полипропиленового планшета:

10 мкл раствора испытуемого соединения, эталонного ингибитора или контроля (наполнитель или L-NMMA);

25 мкл буфера для реакции (50 мМ Трис-HCl, 6 мкМ BH₄, 2 мкМ FMN, 2 мкМ FAD);

5 мкл 10 мМ раствора NADPH;

5 мкл дистиллированной воды;

5 мкл 1 мкМ калмодулина и

5 мкл 0,0024 мкг/мкл iNOS.

Реакционную смесь подвергали предварительной инкубации при комнатной температуре в течение 15 мин. После этой предварительной инкубации реакцию инициировали добавлением к реакционной смеси 5 мкл субстрата L-аргинина (1 мкКи [^3H]-L-аргинина + 30 мкМ немеченого L-аргинина). Общий объем для реакции был 60 мкл. Аналитический планшет, содержащий реакционные смеси, герметизировали и инкубировали при 37°C в течение 30 мин. В конце этого периода инкубации в каждую лунку для остановки реакции добавляли 400 мкл охлажденного на льду буфера для остановки реакции (EDTA в буфере для остановки реакции хелатирует все количество доступного кальция). В каждую из аналитических лунок добавляли 100 мкл уравновешенной смолы с pH 5,5. Реакционные образцы интенсивно перемешивали и переносили в чашки для центрифугирования, после чего их центрифугировали при 13000 об/мин в течение 30 с. Чашки для центрифугирования удаляли из держателя и 20 мкл элюата (содержащего несвязанный L-цитруллин) добавляли в подходящие лунки 96-луночного планшета для жидкостной сцинтилляции. В каждую лунку добавляли также 175 мкл сцинтилляционной жидкости. Планшет герметизировали и радиоактивность количественно определяли с применением сцинтилляционного счетчика Microbeta.

Данные анализировали с применением сигмоидальной кривой доза-реакция (изменяемый наклон) для определения величины IC_{50} испытуемого соединения.

$$Y = \text{Низ} + (\text{Верх} - \text{Низ}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{наклон Hill}))}$$

где X представляет собой логарифм концентрации испытуемого соединения или ингибитора;

Y представляет собой количество образованного L-цитруллина (пмоль);

Низ относится к самой маленькой величине Y и Верх относится к самой большой величине Y.

Она идентична "четырепараметрическому логистическому уравнению".

Фактор наклона (называемый также наклоном Hill) описывает крутизну наклона. Стандартная кривая конкурентного связывания, которая подчиняется закону действующих масс, имеет наклон -1,0. Если наклон является пологим, фактор наклона будет отрицательной величиной (например, -0,85 или -0,60).

Протокол анализа nNOS и eNOS человека.

Реагенты и вещества:	
Ферменты	(Оксид азота)-синтаза (нейронная, человеческая рекомбинантная) nNOS I, Cat. № ALX-201-068, Axhoxa LLC, CA 92121, USA (Оксид азота)-синтаза (эндотелиальная, человеческая рекомбинантная) eNOS III, Cat. № ALX-201-070, Axhoxa LLC
L-NMMA	N ^G -монометил-L-аргинин, 1/04/05, Cat # A17933, Novabiochem
L-NAME	Метилвый эфир N ^G -нитро-L-аргинина, Cat # N5751, Aldrich
Буфер для реакции 2X	50 мМ Трис-HCl (pH 7,4), Cat. № 93313, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO 6 мМ тетрагидробиоптерин (BH ₄), Cat № T4425, Sigma 2 мМ флавинаденидинуклеотид (FAD), Cat. № F6625, Sigma 2 мМ флавинаденинмононуклеотид (FMN), Cat. № F8399, Sigma
Буфер остановки реакции	50 мМ N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфовая кислота (HEPES) (pH 5,5), H7523, Sigma и 5 мМ этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), Cat. № EDS, Sigma
NADPH	10 мМ, свежеполученный в день анализа, Cat. № 7505, Sigma
Хлорид кальция	6 мМ, Cat. № 21107, Sigma
Калмодулин	1 мМ, Cat. № 2277, Sigma
[³ H]-L-аргинин	1мКи/реакцию, 40-70 Ки/ммоль, Cat. № TRK-698, Amersham Biosciences
L-аргинин	2,5 мМ (конечная концентрация при анализе), Cat. № A5131, Sigma
Уравновешенная смола	Смола AG-50W X8 в буфере HEPES (pH 5,5), Cat. № 1421441, Bio-Rad Laboratories Ltd.
Чашки и держатель для Центрифугирования	Cat. № C8163, Fisher Scientific
Сцинтилляционный счетчик	Tri-Carb 2000CA/LL, Canberra Packard Canada
Сцинтилляционная жидкость	Cat. № 6012239, Ultima Gold, Perkin-Elmer Life and
Жидкая среда	Analytical Sciences, MA
CO ₂ -термостат	Lab-Line Enviro Shaker
Микроцентрифуга	Mikro 20
Мешалка для ининсивного перемешивания	Mini Vortex mixer, IKA

Методика анализа nNOS и eNOS человека.

Первичные исходные растворы испытуемых соединений при концентрации 6 мМ получали из 2-5 мг порошка. Первичные исходные растворы каждого испытуемого соединения применяли свежеполученными в дистиллированной воде в день изучения для получения конечной концентрации 6 мМ. Для определения величин IC_{50} 12 концентраций испытуемого соединения получали посредством 3-кратного серийного разведения. Диапазон концентраций испытуемого соединения, применяемого для nNOS, был от 0,001 до 300 мкМ и для eNOS был от 0,003 до 1000 мкМ. Наполнитель для испытуемого соединения или ингибитора можно применять в качестве контроля (слепого опыта). Для определения неспецифической активности применяли 100 мкМ L-NMMA. Опыты с применением концентрации IC_{50} L-NAME проводили параллельно в качестве контролей.

Все инкубации проводили в двух повторностях.

Реакционную смесь получали на льду добавлением микропипеткой следующих компонентов в полипропиленовую трубку микроцентрифуги:

10 мкл раствора испытуемого соединения, ингибитора или контроля (наполнителя или L-NMMA);

25 мкл буфера для реакции (50 мМ Трис-HCl, 0,6 мМ BH_4 , 0,2 мМ FMN, 0,2 мМ FAD);

5 мкл 10 мМ раствора NADPH {1 мМ} (свежеприготовленный в 10 мМ Трис-HCl (pH 7,4);

5 мкл 6 мМ $CaCl_2$ {600 мМ};

5 мкл 1 мМ калмодулина {100 мМ} и

5 мкл 0,02 мкг/мкл nNOS или 0,12 мкг/мкл eNOS.

Указанную выше реакционную смесь подвергали предварительной инкубации при комнатной температуре в течение 15 мин.

Реакцию начинали добавлением к реакционной смеси субстрата (в 5 мкл содержащего 1 мКи [^3H]-L-аргинина + 2,5 мМ немеченого L-аргинина). Общий объем реакционной смеси был 60 мкл.

Реакционную смесь перемешивали с применением мешалки для интенсивного перемешивания и инкубировали при 37° в термостате в течение 30 мин.

Для остановки реакции добавляли 400 мкл охлажденного на льду буфера для остановки реакции в конце периода инкубации.

Реакционную смесь затем перемешивали с применением мешалки для интенсивного перемешивания и образцы реакционных смесей переносили в чашки для центрифугирования, которые центрифугировали с применением микроцентрифуги при 13000 об/мин в течение 30 с при комнатной температуре.

Чашки для центрифугирования удаляли из держателя, 450 мкл элюата (содержащего несвязанный L-цитруллин) переносили в сцинтилляционные флаконы. Добавляли 3 мл сцинтилляционной жидкости и радиоактивность количественно определяли в сцинтилляционном счетчике.

Данные анализировали с применением сигмоидальной кривой доза-реакция (изменяемый наклон) для определения величины IC_{50} испытуемого соединения.

$$Y = \text{Низ} + (\text{Верх} - \text{Низ}) / (1 + 10^{((\text{Log} IC_{50} - X) * \text{наклон Hill}))}$$

где X представляет собой логарифм концентрации испытуемого соединения или ингибитора;

Y представляет собой количество образованного L-цитруллина (пмоль);

Низ относится к самой маленькой величине Y и Верх относится к самой большой величине Y.

Она идентична "четырепараметрическому логистическому уравнению".

Фактор наклона (называемый также наклоном Hill) описывает крутизну наклона. Стандартная кривая конкурентного связывания, которая подчиняется закону действующих масс, имеет наклон -1,0. Если наклон является пологим, фактор наклона будет отрицательной величиной (например, -0,85 или -0,60). Результаты примерных соединений изобретения также показаны в табл. 2.

Таблица 2

Селективное ингибирование NOS человека соединениями (1)-(33)

Соединение	IC ₅₀ nNOS человека, мкМ	IC ₅₀ eNOS человека, мкМ	IC ₅₀ iNOS человека, мкМ	Селективность eNOS/nNOS
1	2.08	87.2	>100	41.9
2	0.43	10.9	10.6	25.3
3	0.85	13.8	1.5	16.2
4	0.41	25.1	2.7	61.2
5	1.84	47	>100	25.5
6	0.2	41.7	10.9	208.5
7	1.06	10.4	>100	9.8
8	0.06	33.5	70.6	531
9	0.20	36.5	7.25	182.5
10	0.08	3.82	3.74	47.7
11	0.24	24.4	117	101.6
12	0.12	19.1	NA	159.1
13	0.19	9.92	NA	52.2
14	0.14	11.5	NA	82.1
15	0.15	20.1	NA	134
16	0.034	7.0	NA	205
17	1.16	10.9	241	9.3
18	0.66	12.6	NA	19
19	0.14	94.7	NA	676
20	0.16	46.4	NA	290
21	0.14	10.0	49.6	71.4
22	0.014	12.1	NA	864
23	0.028	18.6	NA	664
24	0.05	4.45	82.3	89
25	0.20	18.1	43.6	90.5
26	0.15	8.48	60.1	56.5
27	0.13	34.9	66.5	268.4
28	0.08	8.58	NA	107.2
29	0.11	43.6	NA	396

Соединение	IC ₅₀ nNOS человека, мкМ	IC ₅₀ eNOS человека, мкМ	IC ₅₀ iNOS человека, мкМ	Селективность eNOS/nNOS
30	NA	NA	NA	NA
31	NA	NA	NA	NA
32	NA	NA	NA	NA
33	NA	NA	NA	NA

NA = данные недоступны.

Пример 35. Эффективность соединений на моделях прогнозирования состояний невропатической боли.

Было описано несколько животных моделей невропатической боли, которые включают повреждение нерва, включающего повреждение вследствие постоянного сжатия, включающие модель CCI или Bennet (см., например, Bennett and Xie, Pain, 33: 87-107, 1988; Vissers et al. Pharmacol. Biochem. Behav. 84: 479-486, 2006), лигирование неповрежденного нерва (модель SNL или Chung; см., например, Kim et al. Neurosci. Lett. 199: 158-60, 1995) и модель Seltzer (Seltzer et al. Pain 43: 205-18, 1990). Эти модели показывают хорошую корреляцию между лекарственными средствами с доказанной активностью для людей и фармакологической активностью их на этих моделях (Kontinen and Meert, In: Dostrovsky J., Carr D.B., Kotzenburg M., editors. 10th World Congress on Pain, 2003, 24. San Diego, California: IASP Press, 489-98). В общем, эти животные модели обнаруживают изменения в поведенческих реакциях, такие как пониженные механические пороговые величины, механическую гипералгезию, химическую гиперактивность, термическую гипералгезию и холодную аллодинию (Dowdell et al. Pharmacol. Biochem. Behavior 80: 93-108, 2005).

Эффективность соединений изобретения с предполагаемой активностью против гипералгезии и аллодинии для лечения невропатической боли анализировали с применением стандартных животных моделей.

(а) Модель Chung индуцированной повреждением боли, подобной невропатической боли.

Экспериментальные разработки для анализа невропатической боли на модели SNL лигирования спинно-мозгового нерва Chung показаны на фиг. 1 и 2. Повреждение нерва посредством лигирования проводили согласно способу, описанному Kim and Chung (Kim and Chung, Pain 50:355-363, 1992). Эта методика индуцирует симптомы невропатической дизестезии, включающей тактильную аллодинию, термическую гипералгезию и защиту поврежденной лапы. Крыс анестезировали галотаном и обнажали позвонки на протяжении области L4-S2. Спинно-мозговые нервы L5 и L6 обнажали, осторожно отделяли и туго лигировали шелковым шовным материалом 4-0, дистально к DRG. После гарантирования гомеостатической стабильности раны зашивали и животным давали возможность выздоравливать в индивиду-

альных клетках. Ложное оперирование крыс проводили идентичным способом, за исключением того, что спинно-мозговые нервы L5/L6 не лигируют. Любых крыс, проявляющих симптомы двигательной недостаточности, эвтаназируют. После периода выздоровления после хирургического вмешательства крысы проявляли повышенную чувствительность к болезненным и обычно неболезненным стимулам.

После стандартных внутрибрюшинных инъекций доз (например, 3 мг/кг) согласно опубликованной процедуре проявлялось явное действие соединения (8) на реверсивность термической гипералгезии (фиг. 3 и 4).

(b) Дуральное воспаление в качестве крысиной модели мигрени.

Было показано, что нанесение воспалительного супа (IS) или химического стимула на верх твердой мозговой оболочки у крыс вызывает развитие центральной сенситизации и появление механической аллодинии на участках морды, а также задних лапах животных. Эти признаки имитируют характеристики, часто обнаруживаемые у индивидуумов, страдающих мигренью, во время головной боли, особенно, когда задерживают лечение, и имеет место развитие центральной сенситизации (Burstin et al., *Ann. Neurol.* 47:614-624, 2000; Burstin et al., *Brain*, 123:1703-1709, 2000). Соединение (8) испытывали на модели дурального воспаления мигрени согласно ранее описанным методикам (WO 2007/120830 или как описано в US-2008-0031822-A1). Базовую линию пороговых величин отдергивания лап регистрировали приблизительно за 30 мин до введения IS посредством присоединения калиброванных филаментов von Frey к задним лапам для измерения тактильной аллодинии. Приблизительно за 15 мин до введения IS вводили испытуемое соединение в воде пероральным зондовым кормлением (1 мл/кг) при дозе 3 мг/кг через рот (р.о.). Измерения тактильной аллодинии регистрировали с интервалами 1 до 6 ч после введения IS. Действие соединения 8 (3 мг/кг р.о.) против аллодинии показано на фиг. 5.

(c) Индуцированное каррагенаном воспаление в качестве модели первичной и вторичной боли.

Воспаление индуцировали подкожной инъекцией 0,1 мл 3% суспензии каррагенана в незатронутую сторону задней лапы слабо анестезированных крыс. Обычно значительное воспаление и отек были очевидными через 3 ч после инъекции. Каррагенановая модель является моделью воспалительной боли с двумя компонентами: первая, имеющая место сразу после инъекции, обеспечивает информацию по острой ноцицептивной реакции на болезненный стимул (в этом случае химический каррагенан). Имеется также второй, нейрогенный компонент, который развивается на несколько часов позднее и отражает тип нейронной активности вследствие компонентов гипералгезии и аллодинии, обнаруживаемых при невропатической боли. Значительное количество данных показало, что NO и его ферменты принимают участие в центральных механизмах воспалительной гипералгезии на уровне спинного мозга и что периферическое воспаление может позитивно регулировать экспрессию nNOS и индуцировать экспрессию iNOS в спинном мозге (Guhning et al., *J. Neurosci.* 20:6714-6720, 2000; Wu et al., *Exp. Brain Res.* 118:457-465, 1998; и Wu et al., *Pain* 94:47-58, 2001). Кроме того, исследования дефицита iNOS у животных показывают, что nNOS является существенным при развитии и сохранении вторичных компонентов каррагенановой воспалительной боли, тогда как iNOS является достаточным, но не существенным в поздней стадии термической гипералгезии ((Tao et al., *Neuroscience* 120:847-854, 2003). На фиг. 6 показана реверсия механической аллодинии в ипсилатеральной лапе крыс после инъекции каррагенана и введения соединения 8. На фиг. 7 показана реверсия термической гипералгезии (последняя фаза) в ипсилатеральной лапе крыс под действием соединения (8) после внутрибрюшинного введения дозы, измеряемая посредством латентности отдергивания лапы в ответ на термический стимул.

Таким образом, соединение формулы (I) с активностью при nNOS и iNOS является применимым для лечения как мигрени, воспаления, так и более невропатического типа и других болезненных состояний, в которых имеется компонент центральной нейронной сенситизации.

Другие варианты осуществления.

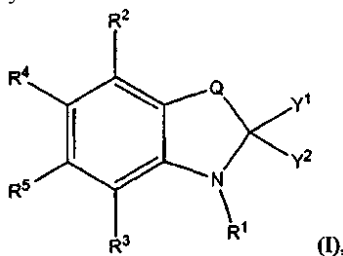
Хотя настоящее изобретение описано со ссылкой на примеры, которые в настоящее время являются предпочтительными, должно быть понятно, что изобретение не ограничивается описанными примерами. Наоборот, имеется в виду, что изобретение включает различные модификации и эквивалентные варианты, включенные в сущность и объем прилагаемой формулы изобретения.

Все публикации, патенты и заявки на патенты включены в контекст в качестве ссылки во всей их полноте до такой же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент была конкретно и отдельно указана, чтобы быть включенной в качестве ссылки во всей ее полноте. Указывается, что когда термин в настоящей заявке определяется отлично от документа, включенного в контекст в качестве ссылки, приведенное в контексте определение следует использовать в качестве определения для термина.

Другие варианты осуществления указываются в формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее формулу



где Q представляет собой O-(CHR⁶)₁₋₃ или S-(CHR⁶)₁₋₃;

R¹ представляет собой H, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил или - (CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D};

R^{1A} и R^{1B} представляют собой, независимо, H, гидрокси, галоген, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₆алкокси, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероарил, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил или необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или R^{1A} и R^{1B} объединяются с образованием =O;

R^{1C} и R^{1D} представляют собой, независимо, H, необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₁₋₆алкокси, необязательно замещенный C₁₋₄алкциклоалкил, необязательно замещенный C₁₋₄алкарил, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероарил, необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или N-защитную группу или R^{1C} и R^{1D} объединяются с образованием необязательно замещенного C₂₋₉гетероцикла;

n равно целому числу 1-6;

каждый из R² и R³ представляет собой, независимо, H, галоген или необязательно замещенный C₁₋₆алкил,

каждый из R⁴ и R⁵ представляет собой, независимо, H, галоген, (CH₂)_{r2}NHC(NH)R^{2A};

где r2 равно целому числу от 0 до 2;

R^{2A} представляет собой необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл;

каждый из Y¹ и Y² представляет собой H, или Y¹ и Y² вместе обозначают =O, или Y¹ и Y² представляют собой, независимо, H или необязательно замещенный C₁₋₆алкил;

по крайней мере один из R⁴ и R⁵ представляет собой (CH₂)_{r2}NHC(NH)R^{2A};

R⁶ представляет собой H или необязательно замещенный C₁₋₆алкил,

или его фармацевтически приемлемая соль, где C₂₋₉гетероцикл содержит от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; гетероциклический остаток в C₁₋₄алкгетероциклической группе представляет собой C₂₋₉гетероцикл, содержащий от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; гетероарильный остаток в C₁₋₄алкгетероарильной группе представляет собой C₂₋₉гетероарил, содержащий от одного до четырех гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из атомов азота, кислорода и серы; и арильный остаток в C₁₋₄алкарильной группе представляет собой C₆₋₁₀арил;

где необязательные заместители для алкила выбраны из (1) алкокси с атомами углерода от одного до шести; (2) amino; (3) циклоалкила с атомами углерода от трех до восьми; (4) галогена; (5) гетероцикла; (6) гидрокси; (7) N-защитного amino; (8) оксо; (9) -CO₂R^A, где R^A выбран из алкила или водорода; (10) -C(O)NR^BR^C, где каждый из R^B и R^C независимо выбран из водорода или алкила; и (11) -NR^GR^H, где каждый из R^G и R^H независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) N-защитной группы и (c) алкила с числом атомов углерода от одного до шести;

необязательные заместители для арила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) aminoалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) -(CH₂)_qCO₂R^A, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода, (11) -(CH₂)_qCONR^BR^C, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила, (12) перфторалкила; (13) перфторалкокси;

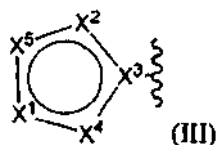
необязательные заместители для циклоалкила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, где ал-

кильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) аминоалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) оксо; (11) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода, (12) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила; (13) перфторалкила; (14) перфторалкокси;

необязательные заместители для гетероцикла или гетероарила выбраны из (1) алкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (2) алкокси, имеющего от одного до шести атомов углерода; (3) алкоксиалкила, у которого алкильная и алкиленовая группы независимо имеют от одного до шести атомов углерода; (4) amino; (5) аминоалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (6) галогена; (7) галогеналкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (8) гидрокси; (9) гидроксиалкила, имеющего от одного до шести атомов углерода; (10) оксо; (11) $-(CH_2)_qCO_2R^A$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^A выбран из алкила или водорода; (12) $-(CH_2)_qCONR^BR^C$, где q равно целому числу от нуля до четырех и R^B и R^C независимо выбраны из водорода или алкила; (13) перфторалкила; (14) перфторалкокси.

2. Соединение по п.1, где Q представляет собой $-O-(CHR^6)_{1-2}$ или $-S-(CHR^6)_{1-2}$ и R^1 представляет собой H , необязательно замещенный C_{1-6} алкил, необязательно замещенный C_{1-4} алкарил, необязательно замещенный C_{1-4} алкгетероцикл или необязательно замещенный C_{2-9} гетероцикл.

3. Соединение по п.1, где R^{2A} имеет формулу



и каждый из X^1 , X^2 , X^4 и X^5 независимо выбран из O , S , NR^7 , N или CR^8 ;

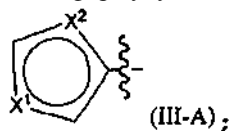
X^3 выбран из N или C ;

R^7 представляет собой H или необязательно замещенный C_{1-6} алкил;

R^8 представляет собой H , галоген, необязательно замещенный C_{1-6} алкил, гидрокси или необязательно замещенный C_{1-6} алкокси;

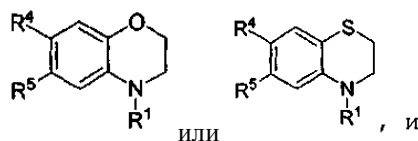
по меньшей мере один из X^1 , X^2 , X^4 и X^5 не является CR^8 .

4. Соединение по п.3, у которого R^{2A} имеет формулу

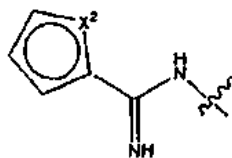


и каждый из X^1 и X^2 независимо выбран из O , S , NH , N или CH и по меньшей мере один из X^1 и X^2 не является CH .

5. Соединение по п.1, где указанное соединение имеет структуру, выбранную из

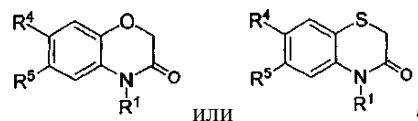


у которой один из R^4 и R^5 имеет следующую структуру:

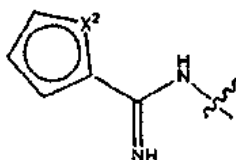


где X^2 представляет собой O или S .

6. Соединение по п.1, где указанное соединение имеет структуру, выбранную из



где один из R^4 и R^5 имеет следующую структуру:



и X^2 представляет О или S.

7. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой O-CHR⁶.

8. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой S-CHR⁶.

9. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой O-CHR⁶.

10. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой S-CHR⁶.

11. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой O-(CHR⁶)₂.

12. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой S-(CHR⁶)₂.

13. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой S-(CHR⁶)₂.

14. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой O-(CHR⁶)₂.

15. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой O-(CHR⁶)₃.

16. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой S-(CHR⁶)₃.

17. Соединение по п.1, у которого Y^1 и Y^2 вместе образуют =О и Q представляет собой S-(CHR⁶)₃.

18. Соединение по п.1, у которого каждый из Y^1 и Y^2 представляет собой Н и Q представляет собой O-(CHR⁶)₃.

19. Соединение по любому из пп.1-18, у которого R¹ представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил, необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл или необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл.

20. Соединение по п.19, у которого R¹ представляет собой необязательно замещенный аминок₁₋₆алкил.

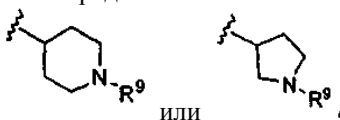
21. Соединение по п.19, у которого R¹ представляет собой необязательно замещенный C₁₋₄алкгетероцикл, где указанный гетероцикл представляет собой 5- или 6-членный циклический амин.

22. Соединение по п.21, у которого указанный циклический амин замещен карбоновой кислотой, сложным C₁₋₆эфиром или амидом.

23. Соединение по п.19, у которого R¹ представляет собой необязательно замещенный C₂₋₉гетероцикл.

24. Соединение по п.23, где указанный гетероцикл представляет собой необязательно замещенный пирролидинил или необязательно замещенный пиперидинил.

25. Соединение по п.24, у которого R¹ представляет собой



где R⁹ представляет собой Н, необязательно замещенный C₁₋₆алкил или необязательно замещенный C₁₋₄алкарин.

26. Соединение по п.25, у которого R⁹ представляет собой Н.

27. Соединение по любому из пп.1 и 3-18, у которого R¹ представляет собой необязательно замещенный C₃₋₈циклоалкил или -(CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D}.

28. Соединение по п.27, у которого R¹ представляет собой (CR^{1A}R^{1B})_nNR^{1C}R^{1D}.

29. Соединение по п.28, у которого каждый из R^{1A} и R^{1B} представляет собой Н и n равно 2 или 3.

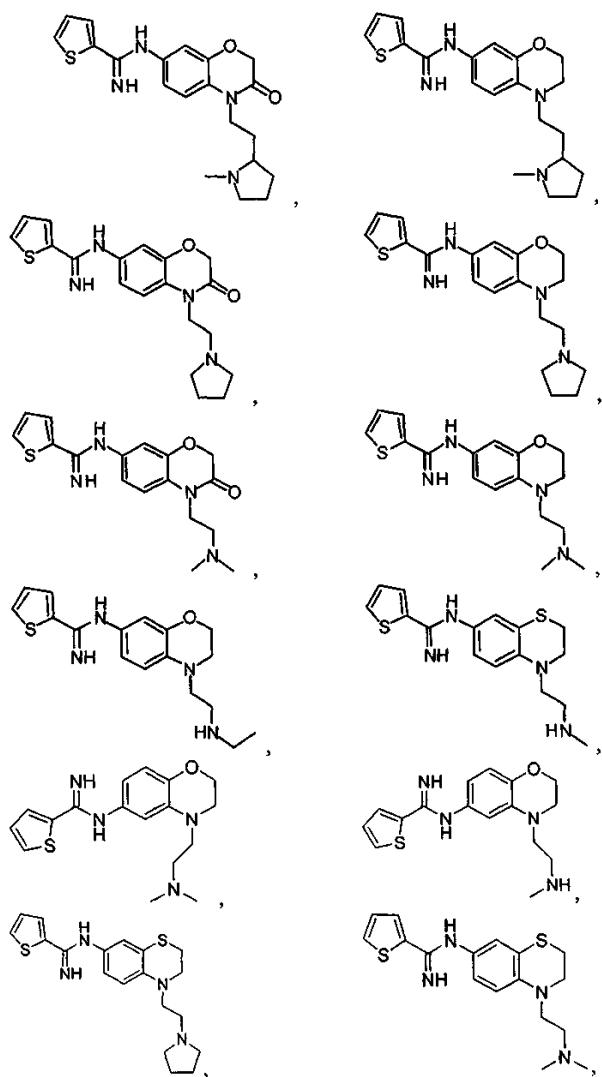
30. Соединение по п.28, у которого R^{1C} представляет собой Н и R^{1D} представляет собой -CH₃, -CH₂CH₃, -(CH₂)₂ОН или -CH₂CO₂Н или R^{1C} и R^{1D} соединяются с образованием необязательно замещенного пирролидинила или необязательно замещенного пиперидинила.

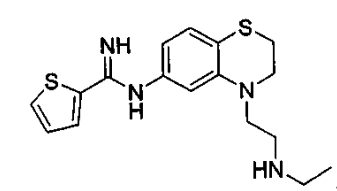
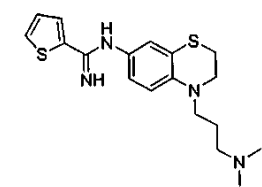
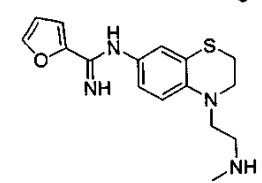
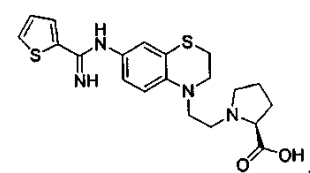
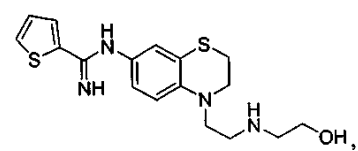
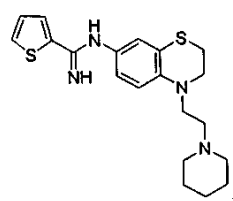
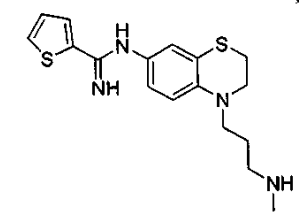
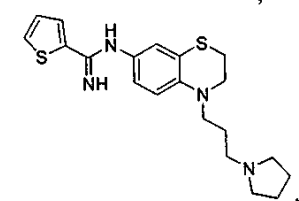
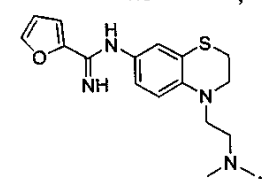
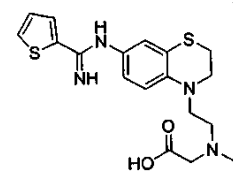
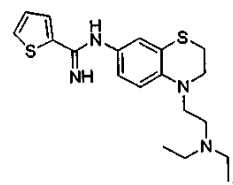
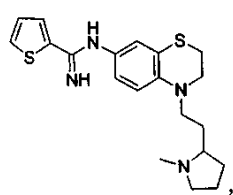
31. Соединение по п.28, у которого R¹ представляет собой -CH₂CH₂N(CH₃)₂ или -CH₂CH₂NHCH₃.

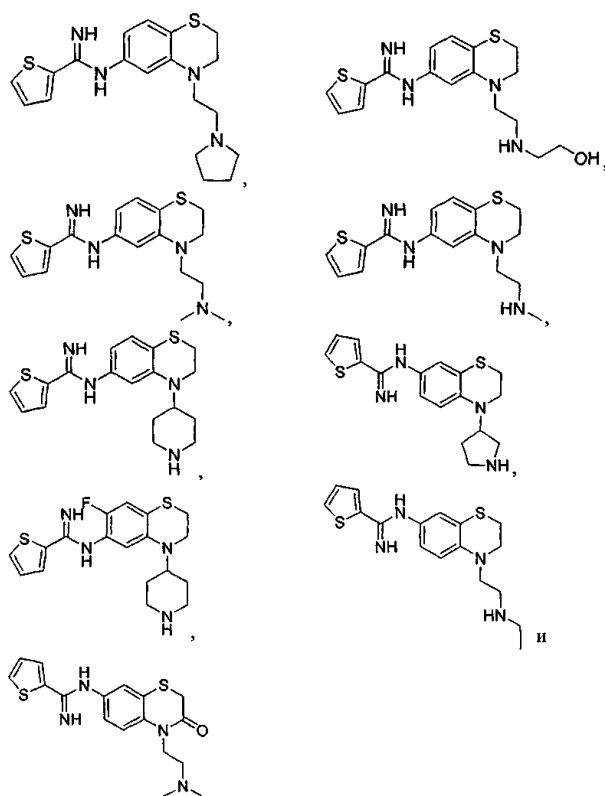
32. Соединение по п.27, у которого R¹ представляет собой C₃₋₈циклоалкил, замещенный аминами.

33. Соединение по любому из пп.1-32, у которого один из R⁴ или R⁵ представляет собой Н или F.

34. Соединение, выбранное из группы, состоящей из

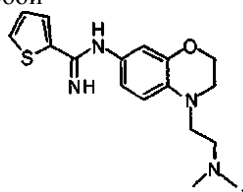






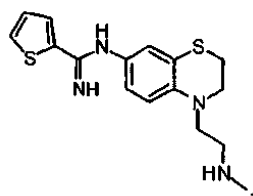
или их фармацевтически приемлемых солей.

35. Соединение, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

36. Соединение, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

37. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-36 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый эксципиент.

38. Способ лечения или предотвращения состояния у млекопитающего, вызванного действием (оксид азота)-синтазы (NOS), где указанный способ содержит введение эффективного количества соединения любого из пп.1-36 или его фармацевтически приемлемой соли указанному млекопитающему.

39. Способ по п.38, где указанным млекопитающим является человек.

40. Способ по п.38, где указанное состояние представляет собой головную боль, невропатическую боль, хроническую воспалительную боль, висцеральную боль, нейровоспаление, индуцированную лекарственными средствами гипералгезию и/или аллодинию, острую боль, хроническую боль, боль при раке костей, химическую зависимость или аддикцию, нарушение ЦНС, нейродегенеративное заболевание или повреждение нерва, связанное с сердечно-сосудистой системой состояние или желудочно-кишечное нарушение.

41. Способ по п.40, в котором указанной головной болью является головная боль типа мигрени (с аурой или без нее), хроническая головная боль напряжения (СТГН), мигрень с аллодинией, головная боль вследствие чрезмерного употребления лекарственных средств, кластерная головная боль, хроническая головная боль или трансформированная мигрень.

42. Способ по п.40, где указанной головной болью является головная боль с лежащим в ее основе механизмом центральной сенсibilизации.

43. Способ по п.40, где указанная хроническая боль имеет компоненты центральной сенсibilизации.

44. Способ по п.43, где указанной хронической болью является невропатическая боль.

45. Способ по п.44, где указанной невропатической болью является связанная со СПИД болезненная невропатия, центральная боль после инсульта (CPSP), диабетическая невропатия, невропатическая боль, индуцированная химиотерапией, постгерпетическая невралгия или тригеминальная невралгия.

46. Способ по п.45, где указанной невропатической болью является постгерпетическая невралгия.

47. Способ по п.40, где указанная хроническая воспалительная боль является результатом остеоартрита, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, псориатического артрита, недифференцированной спондилоартропатии или воспалительного артрита.

48. Способ по п.40, где указанной индуцированной лекарственным средством гипералгезией или аллодинией является индуцированная опиоидом гипералгезия/аллодиния или индуцированная триптанами (5-HT_{1D/1B}-агонисты) гипералгезия или аллодиния.

49. Способ по п.45, в котором указанная индуцированная химиотерапией невропатическая боль индуцируется паклитакселом, цис-платином или доксорубицином.

50. Способ по п.40, где указанной химической зависимостью или аддикцией является аддикция к употреблению лекарственного средства; аддикция к употреблению кокаина; аддикция к никотину; индуцированная метамфетамином нейротоксичность; этанольная толерантность, этанольная зависимость или этанольная абстиненция, индуцированная морфином/опиоидом толерантность, индуцированная морфином/опиоидом зависимость, индуцированная морфином/опиоидом гипералгезия или индуцированная морфином/опиоидом абстиненция.

51. Способ по п.40, где указанным нарушением ЦНС является эпилепсия, тревога, депрессия, синдром дефицита внимания и гиперактивности (ADHD), психоз или деменция.

52. Способ по п.40, где указанным нейродегенеративным заболеванием или повреждением нерва является острое повреждение спинного мозга, связанная со СПИД деменция, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Хантингтона, рассеянный склероз, нейротоксичность или травма головы.

53. Способ по п.40, где указанным связанным с сердечно-сосудистой системой состоянием является инсульт, связанное с обходным сосудистым шунтом коронарной артерии (CABG) неврологическое нарушение, гипотермическая задержка работы сердца (HCA), боль после инсульта, кардиогенный коллапс (при инфаркте миокарда), повреждение при реперфузии или васкулярная деменция.

54. Способ по п.40, где указанным желудочно-кишечным нарушением является связанная с илеостомией диарея или демпинг-синдром.

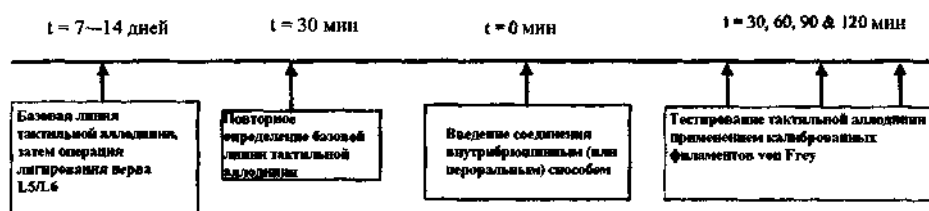
55. Способ по п.40, где указанным состоянием является висцеральная боль.

56. Способ по п.38, где указанным состоянием является инсульт, повреждение при реперфузии, нейродегенерация, травма головы, обходной сосудистый шунт коронарной артерии (CABG), мигрень с аллодинией, центральная боль после инсульта (CPSP) или индуцированная морфином/опиоидом гипералгезия.

57. Соединение по п.36, где указанное соединение представляет собой гидрохлоридную соль.

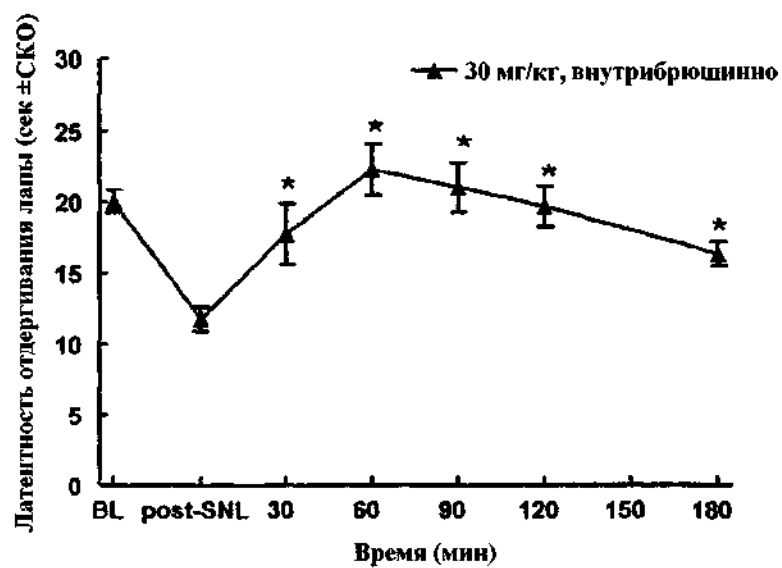


Фиг. 1



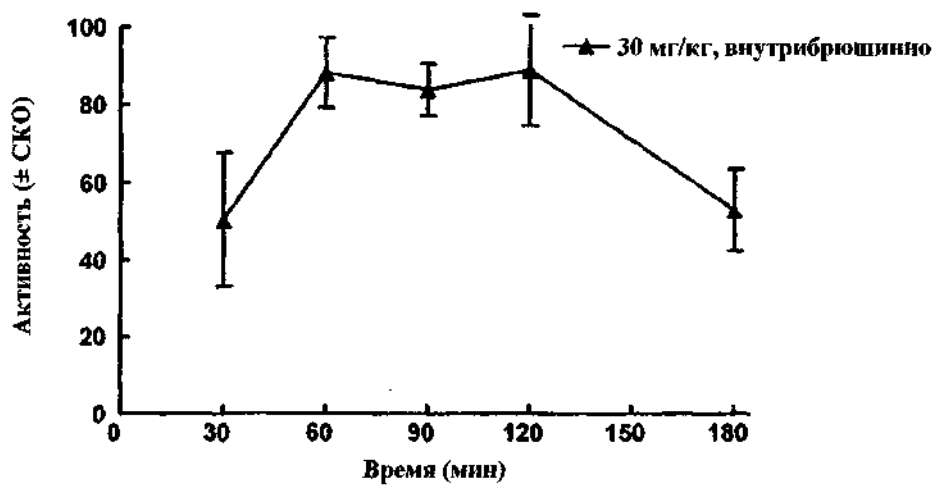
Фиг. 2

Действия соединения 8 против гипералгезии
у L5/L6 SNL SD крыс

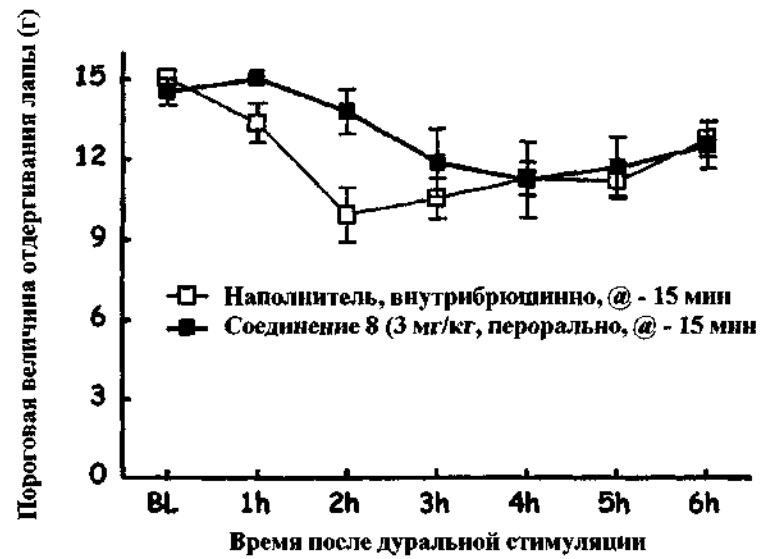


Фиг. 3

Действия соединения 8 против гипералгезии
у L5/L6 SNL SD крыс

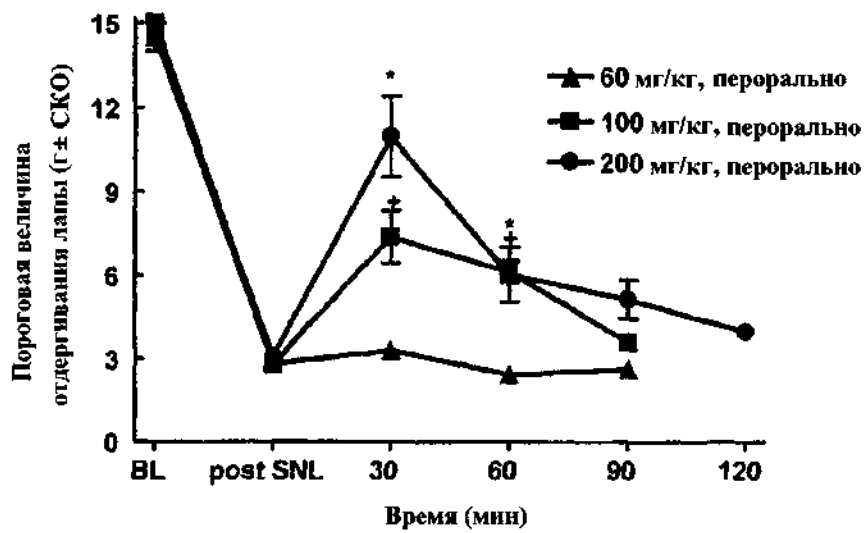


Фиг. 4



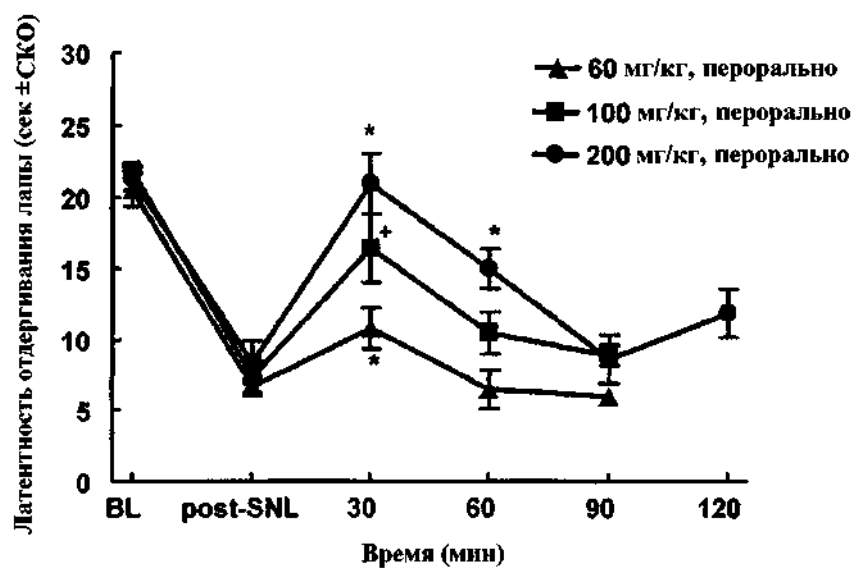
Фиг. 5

Действия соединения 8 против аллодинии в каррагенановой модели SD крыс



Фиг. 6

**Действия соединения 8 против гипералгезии в
каррагенановой модели SD крыс**



Фиг. 7



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2