



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **125302** (13) **C2**

(51) МПК (2022.01)

C07D 487/04 (2006.01)**C07D 519/00****A61K 31/519** (2006.01)

A61P 25/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2019 06027	(72) Винахідник(и):	ван Росбрук Ів Еміль Марія (BE), ван Ден Кейбюс Франс Альфонс Марія (BE), Тресадерн Гері Джон (ES), Бейнстерс Петер Якобус Йоганнес Антоніус (BE), Велтер Адріана Інгрід (BE), Якобі Едгар (BE), Макдональд Грегор Джеймс (BE), Гейсен Генрікус Якобус Марія (BE), Агнау Абделлаг (BE), Дрінкенбург Вільгельмус Гелена Ігнатіус Марія (BE)
(22) Дата подання заявки:	31.10.2017	(73) Володілець (володільці):	ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ, Turnhoutseweg 30, 2340 Beerse, Belgium (BE)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	17.02.2022	(74) Представник:	Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	16196924.1	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2015/164508 A1, 29.10.2015 WO 2017/076900 A1, 11.05.2017
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	02.11.2016		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.07.2019, Бюл.№ 14		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	16.02.2022, Бюл.№ 7		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2017/077910, 31.10.2017		

(54) ПОХІДНІ [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-А]ПІРИМІДИНУ ЯК ІНГІБІТОРИ PDE2**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується нових [1,2,4]триазоло[1,5-а]піримідинільних похідних як інгібіторів фосфодіестерази 2 (PDE2). Даний винахід також спрямований на фармацевтичні композиції, які містять сполуки, на способи одержання таких сполук і композицій та на застосування таких сполук і композицій для попередження та лікування розладів, до яких залучена PDE2, таких як неврологічні та психічні розлади.

UA 125302 C2

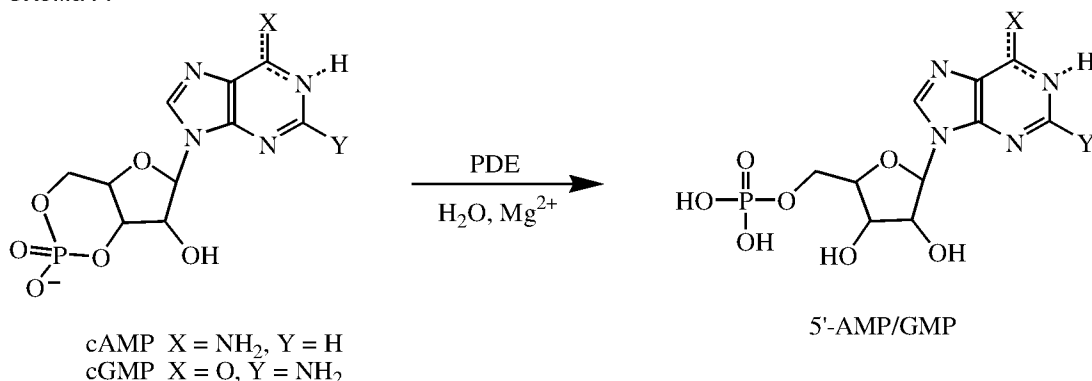
ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

Даний винахід стосується нових [1,2,4]триазоло[1,5-а]піримідинільних похідних як інгібіторів фосфодіестерази 2 (PDE2). Даний винахід також спрямований на фармацевтичні композиції, які містять сполуки, на способи одержання таких сполук і композицій та на застосування таких сполук і композицій для попередження та лікування розладів, до яких залучена PDE2, таких як

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Фосфодіестерази (PDE) являють собою родину ферментів, які кодується 21 геном і поділені на 11 окремих родин згідно зі структурними та функціональними властивостями. Ці ферменти здійснюють метаболічну інактивацію широко розповсюджених внутрішньоклітинних вторинних месенджерів, циклічного 3',5'-аденозинмонофосфату (сAMP) і циклічного 3',5'-гуанозинмонофосфату (сGMP). Ці два месенджери регулюють різноманіття біологічних процесів, у тому числі вироблення та дію прозапальних медіаторів, функціонування іонних каналів, скорочення м'язів, комітування, диференціювання, апоптоз, ліпогенез, глікогеноліз і глюконеогенез. Вони здійснюють це за допомогою активації протеїнкінази A (PKA) і протеїнкінази G (PKG), які, у свою чергу, фосфорилують велику кількість субстратів, у тому числі фактори транскрипції та іонні канали, які регулюють численні фізіологічні реакції. У випадку нейронів передбачається активація сAMP- та сGMP-залежних кіназ із наступним фосфорилуванням білків, залучених у швидку регуляцію синаптичної передачі, а також у диференціювання та виживання нейронів. Внутрішньоклітинні концентрації сAMP і сGMP точно регулюються швидкістю біосинтезу за допомогою циклаз і швидкістю розщеплення за допомогою PDE. PDE являють собою гідролази, які інактивують сAMP і сGMP шляхом каталітичного гідролізу 3'-естерного зв'язку з утворенням неактивного 5'-монофосфату (схема А).

Схема А



Відповідно до субстратної специфічності родин PDE можна виділити три групи: i) сAMP-специфічні PDE, які включають PDE4, 7 і 8; ii) сGMP-селективні ферменти PDE5, 6 і 9 та iii) PDE, які діють на два субстрати, PDE1, 2 і 3, а також PDE10 та 11.

Окрім того, для PDE характерна диференційна експресія у всьому організмі, в тому числі в центральній нервовій системі. Таким чином, різні ізоферменти PDE можуть мати різні фізіологічні функції. Сполуки, які селективно інгібують родини або ізоферменти PDE, можуть виявляти особливу терапевтичну активність, меншу кількість побічних ефектів або і те, і інше.

Фосфодіестераза 2A (PDE2A) інактивує внутрішньоклітинні механізми передачі сигналів, які залежать від передачі сигналів за допомогою циклічних нуклеотидів, опосередкованої сAMP і сGMP, завдяки їхньому розщепленню (шляхом гідролізу важливих із біологічного погляду вторинних месенджерів сAMP і сGMP із одержанням відповідно AMP і GMP, які не передають сигнали). Такі сигнальні шляхи, як відомо, відіграють роль у регуляції генів, залучених в індукцію синаптичної пластичності.

Фармакологічне інгібування PDE2, таким чином, зумовлює підвищення рівнів синаптичної пластичності (корелята, який лежить в основі навчання та формування пам'яті), що вказує на те, що модуляція PDE2A може являти собою мішень для полегшення порушень пізнавальних здібностей, які спостерігаються у людей, що страждають такими розладами, як, наприклад, шизофренія, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона та інші розлади ЦНС, асоційовані з когнітивною дисфункцією.

Фосфодіестераза 2A (PDE2A) експресується у головному мозку в великій кількості порівняно з периферичними тканинами. Високий рівень експресії PDE2 в лімбічній системі (ізокортексі,

гіпокампі, мигдалеподібному тілі, повідці епіталамуса, базальному ядрі) вказує на те, що PDE2 може модулювати передачу сигналу між нейронами, пов'язану з емоціями, сприйняттям, увагою, навчанням і пам'яттю. Окрім того, PDE2 експресується в прилеглому ядрі, нюховій цибуліні, нюховому горбку та мигдалеподібному тілі, що підтверджує припущення, що PDE2 також може бути залучена до тривожності та депресії (див., наприклад, Lakics, V. et al. (2010) Quantitative comparison of phosphodiesterase mRNA distribution in human brain and peripheral tissues. *Neuropharmacol.* 59, 367-374).

Окрім того, було показано, що інгібітори PDE2 корисні для послаблення індукованої окиснювальним стресом тривожності, що підтверджує їх застосування в лікуванні тривожності при нейропсихічних та нейродегенеративних розладах, до яких залучений окиснювальний стрес, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона та розсіяний склероз.

Було показано, що інгібітори PDE2 підсилюють довготривалу потенціацію синаптичної передачі та поліпшують запам'ятовування і консолідацію пам'яті під час розпізнавання об'єкта та в тестах соціальної орієнтації у щурів. Окрім того, було показано, що інгібітори PDE2 усувають послаблення короткочасної пам'яті, індуковане МК-801, в Т-подібному лабіринті у мишей. Також було показано, що інгібітори PDE2 виявляють активність у тесті примусового плавання та моделях із світлою/темною камерою; а також демонструють ефекти, аналогічні анксиолітикам, в тестах із трохи піднятим хрестоподібним лабіринтом, платформою з отворами та тесті відкритого поля і запобігають викликаним стресом змінам апоптозу та поведінки.

Таким чином, інгібітори PDE2 можуть бути застосовні у лікуванні послаблення пам'яті, порушень пізнавальних здібностей, тривожності, біполярного розладу та депресії.

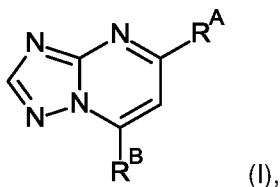
У WO2015/164508 (Dart Neuroscience, LLC) розкриті заміщені [1,2,4]триазоло[1,5-а]піримідинільні сполуки як інгібітори PDE2. У WO2017/076900 (Janssen Pharmaceutica NV) розкривається [(3S,4R)-3-[5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піримідин-7-іл]-4-метил-1-піперидил]-(2,6-диметил-4-піридил)метанон.

Усе ще існує необхідність у сполуках, які є інгібітором PDE2, з переважним поєднанням властивостей, наприклад, з покращеною ефективністю, кращою селективністю до PDE3 та/або PDE10 та/або кращою хімічною або метаболічною стабільністю.

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Метою даного винаходу є забезпечення нових інгібіторів PDE2, які можуть бути потенційно застосовні у лікуванні захворювань, пов'язаних із активністю ферменту PDE2.

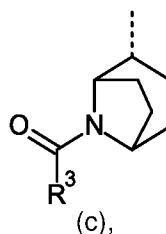
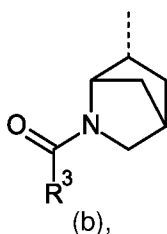
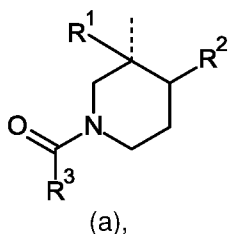
Таким чином, даний винахід спрямований на сполуки формули (I),



та їх стереоізомерні форми, де

R^A вибраний із групи, яка складається з H, CH_3 , CN і CHF_2 ;

R^B являє собою радикал, вибраний із групи, яка складається з (a), (b) і (c):



де

R^1 являє собою H, F або CH_3 ;

R^2 являє собою H або C_{1-4} алкіл, зокрема метил або н-бутил; за умови, що якщо R^2 являє собою H, то R^1 являє собою F або CH_3 ;

R^3 являє собою Ar, Het або Ar-C_{2-4} алкеніл; де

Ar являє собою феніл або нафтил, кожен із яких необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; CN;

$NR^{2A}R^{2B}$, де кожен із R^{2A} і R^{2B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; OH; C_{1-6} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-6} алкілу, заміщеного CN; C_{3-6} циклоалкілу; C_{1-6} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та піразолілу;

5 Нет являє собою

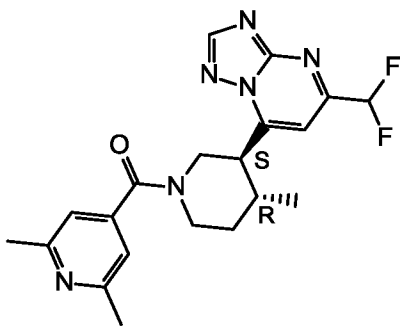
(i) 5-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1H-піролілу; тієнілу; фуранілу; 1H-піразолілу; 1H-імідазолілу; 1,2-оксазолілу; 1,3-оксазолілу та тіазолілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; $NR^{3A}R^{3B}$, де кожен із R^{3A} і R^{3B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; та фуран-2-ілу; або

(ii) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; CN; $NR^{4A}R^{4B}$, де кожен із R^{4A} і R^{4B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} циклоалкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-4} циклоалкілу, заміщеного OH; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси; C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси- C_{1-4} алкілу; або

(iii) 8-10-членний біциклічний частково ненасичений гетероцикліл, вибраний із групи, яка складається з 2,3-дигідро-1-бензофуранілу; 2H-хроменілу; 3,4-дигідро-2H-хроменілу; 2,3-дигідро-1H-індолілу, необов'язково заміщеного в положенні 1 C_{1-4} алкілом, метилсульфонілом, 1-ацетиллом або фторацетиллом; 2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолілу; 1,3-бензодіоксолілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою метил; 3,4-дигідро-2H-1,4-бензоксазинілу, необов'язково заміщеного C_{1-4} алкілом; 5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридинілу; 5,6,7,8-тетрагідрокінолінілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою атом галогену; та 2,3-дигідропіразоло[5,1-b][1,3]оксазолілу; або

(iv) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1H-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1H-бензімідазолілу; імідазо[1,2-a]піридинілу; піразоло[1,5-a]піридинілу; 1H-тієно[2,3-c]піразолілу; імідазо[2,1-b]тіазолілу; піроло[2,3-c]піридинілу; тієно[3,2-b]піридинілу; хінолінілу; ізохінолінілу; хіноксалінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; $NR^{5A}R^{5B}$, де кожен із R^{5A} і R^{5B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;

за умови, що сполука не являє собою сполуку



та їх N-оксиди й фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

Ілюстрацією даного винаходу є фармацевтична композиція, що містить фармацевтично прийнятний носій та сполуку формули (I), описану в даному документі, або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват. Ілюстрацією даного винаходу є фармацевтична композиція, одержана за допомогою змішування сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату та фармацевтично прийнятного носія. Ілюстрацією даного винаходу є спосіб одержання фармацевтичної композиції, який передбачає змішування сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату та фармацевтично прийнятного носія.

Додатковою ілюстрацією даного винаходу є способи підвищення нейронної пластичності, які передбачають введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості

сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Прикладами даного винаходу є способи лікування розладу, опосередкованого ферментом PDE2, які передбачають введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Додатковими прикладами даного винаходу є способи інгібування ферменту PDE2, які передбачають введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Прикладом даного винаходу є спосіб лікування розладу, вибраного із групи, яка складається з неврологічних та психічних розладів, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Прикладом даного винаходу є спосіб лікування розладу, вибраного із групи неврологічних та психічних розладів, вибраних із психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; інсульту та аутичних розладів, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Прикладом даного винаходу є спосіб лікування розладу, вибраного із групи, яка складається з неврологічних та психічних розладів, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Прикладом даного винаходу є спосіб лікування розладу, вибраного із групи неврологічних та психічних розладів, вибраних із психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; розладів, пов'язаних із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті; інсульту та аутичних розладів, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), або її солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Також прикладом даного винаходу є сполука формули (I), або її сіль або сольват, або фармацевтична композиція, описані вище, для застосування як лікарського препарату.

Додатковим прикладом даного винаходу є сполука формули (I), або її сіль або сольват, або фармацевтична композиція згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні, попередженні, зменшенні інтенсивності вияву, контролі або зниженні ризику виникнення різних неврологічних та психічних розладів, асоційованих із порушенням функції фосфодіестерази 2, у ссавця, у тому числі у людини, лікування або попередження яких залежить від інгібування фосфодіестерази 2 або полегшується ним.

Прикладом даного винаходу є сполука формули (I), або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват згідно з даним винаходом, або фармацевтична композиція згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні, попередженні, зменшенні інтенсивності вияву, контролі або зниженні ризику виникнення різних розладів, вибраних із психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; розладів, пов'язаних із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті; інсульту й аутичного розладу.

Прикладом даного винаходу є спосіб лікування розладу, вибраного із групи, яка складається з хвороби Альцгеймера, помірного когнітивного порушення, старечої деменції, деменції, деменції з тільцями Леві, синдрому Дауна, деменції, асоційованої з інсультом, деменції, асоційованої з хворобою Паркінсона та деменції, асоційованої з відкладанням бета-амілоїду, переважно хвороби Альцгеймера, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

Іншим прикладом даного винаходу є сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, описані в даному документі, для застосування у лікуванні: (a) хвороби Альцгеймера, (b) помірного когнітивного порушення, (c) старечої деменції, (d) деменції, (e) деменції з тільцями Леві, (f) синдрому Дауна, (g) деменції, асоційованої з інсультом, (h) деменції, асоційованої із хворобою Паркінсона, (i) деменції, асоційованої з відкладанням бета-амілоїду, (j) депресивних розладів і (k) тривожних розладів у суб'єкта, який потребує цього.

ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

На фігурі 1 показаний ефект сполуки 110 щодо індукції за допомогою слабкої HFS довготривалої потенціації (LTP) в синапсі моховитих волокон.

На фігурі 2 показаний план експерименту для тета-імпульсної стимуляції.

На фігурі 3 показаний ефект сполуки 70 щодо індукції за допомогою слабкої HFS довготривалої потенціації (LTP) в синапсі моховитих волокон.

На фігурі 4 показаний ефект сполуки 25а щодо індукції за допомогою слабкої HFS довготривалої потенціації (LTP) в синапсі моховитих волокон.

На фігурі 5 показаний ефект сполуки 220 щодо індукції за допомогою слабкої HFS довготривалої потенціації (LTP) в синапсі моховитих волокон.

На фігурах 6-15 (сполуки 220, 110, 93, 32, 70, 25а, 281, 295, 356 та 335 відповідно) показане вимірювання рівнів cGMP в CSF у собак породи Marshall Beagle. На фігурах 6-15 різні дози тестових сполук представлені наступним чином: ■ 0 мг/кг; ● 0,5 мг/кг; ◆ 0,75 мг/кг; ▲ 1 мг/кг; ▼ 1,25 мг/кг; ✱ 1,5 мг/кг; ▽ 2,5 мг/кг.

На фігурі 16 показані короточасні ефекти сполуки 110 на синаптичну функцію *in vivo* на синапсі колатералей Шаффера (SC)-CA1. На фіг. 16а показано схематичне зображення розташування біполярного стимулювального електрода на шляху колатералей Шаффера та монополярного реєструвального електрода у stratum radiatum області Cornu Ammonis CA1 гіпокампу; на фіг. 16b показаний короткий огляд кривих I/O, одержаних шляхом застосування стимуляції зі збільшенням інтенсивності та вимірювання початкових нахилів одержаних fEPSP, яке не виявило різниці у відношенні основної збудливості шляху SC-CA1; на фіг. 16с показані морфології відповіді протягом початкового рівня, через 30 хв. після обробки та через 30 хв. після протоколу тетанічної HFS. Необхідно відзначити схожість у величині зареєстрованих даних відповідей fEPSP під час початкової реєстрації рівнів між групами обробки, які збільшувалися вище початкового рівня, та умови застосування середовища-носія у групі, яку обробляли за допомогою сполуки 110; на фіг. 16d показана залежність від часу нахилу fEPSP через 30 хв. після реєстрації початкового рівня, через 30 хв. після введення сполуки 110, і при цьому застосовували протокол тетанічної HFS та реєстрували нахил fEPSP протягом ще 2 годин. Необхідно відзначити, що сполука 110 у дозі, яка становить 20 та 40 мг/кг, забезпечувала збільшення базальної синаптичної передачі до протоколу тетанічної HFS та нахилу fEPSP протягом 2 годин після протоколу HFS (вставлений графік); на фіг. 16е показано, що якщо fEPSP усереднювали за інтервали часу, що становили 30 хв., сполука 110 (40 мг/кг) забезпечувала збільшення величини синаптичної передачі, та різниця з групою, яку обробляли середовищем-носієм, залишалася значною. Значення виражені у вигляді відсотка від значень зареєстрованих перед HFS, та результати представлені у вигляді середніх значень $\pm$ SEM. Для порівнянь груп застосовувалися тести з однофакторним дисперсійним аналізом (ANOVA) і апостеріорним аналізом з найменшою достовірною різницею (LSD).

На фіг. 16b та c діаграми характеризуються наступними значеннями:

▨ середовище-носії (n=10); ■■ сполука 110 (мг/кг) (20) n=9; ■■■ сполука 110 (мг/кг) (40) n=8; на фіг. 16d та 16e діаграми характеризуються наступними значеннями:

■ середовище-носії (n=10); ▨ сполука 110 (мг/кг), (20) n=9; ■ сполука 110 (мг/кг) (40) n=8

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

ВИЗНАЧЕННЯ

"C₁₋₄алкіл", використовуваний у даному документі окремо або як частина іншої групи, означає насичений вуглеводневий радикал із прямим або розгалуженим ланцюгом, який містить 1, 2, 3 або 4 атоми вуглецю, такий як метил, етил, 1-пропіл, 1-метил, бутіл, 1-метилпропіл, 2-метил-1-пропіл, 1,1-диметилетил тощо. Термін "C₁₋₆алкіл", використовуваний у даному документі як група або частина групи, означає насичений вуглеводневий радикал із прямим або розгалуженим ланцюгом, який містить від 1 до 6 атомів вуглецю, такий як групи, визначені для C₁₋₄алкілу, та н-пентил, н-гексил, 2-метилбутіл тощо. "C₁₋₄алкілокси" буде позначати радикал у вигляді етеру, де C₁₋₄алкіл визначений у даному документі. "C₁₋₆алкілокси" буде позначати радикал у вигляді етеру, де C₁₋₆алкіл визначений у даному документі. "Галоген" буде позначати фтор, хлор і бром. "C₃₋₆циклоалкіл" буде позначати циклопропіл, циклобутил, циклопентил та

циклогексил. "С₃-циклоалкілокси" буде позначати радикал у вигляді етеру, де С₃-циклоалкіл визначений у даному документі.

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

Передбачається, що N-оксидні форми сполук згідно з формулою (I) включають ті сполуки формули (I), в яких один або декілька атомів азоту окиснені до так званого N-оксиду, зокрема ті N-оксиди, в яких окисненням є атом азоту в піридинільному радикалі. N-оксиди можна одержувати згідно з процедурами, відомими фахівцю в даній галузі. Реакцію N-окиснення, як правило, можна проводити шляхом здійснення реакції вихідної речовини формули (I) з відповідним органічним або неорганічним пероксидом. Відповідні неорганічні пероксиди включають, наприклад, пероксид водню, пероксиди лужних металів або лужноземельних металів, наприклад, пероксид натрію, пероксид калію; відповідні органічні пероксиди можуть включати пероксикислоти, такі як, наприклад, бензолкарбопероксова кислота або галогензаміщена бензолкарбопероксова кислота, наприклад, 3-хлорпероксибензойна кислота (або 3-хлорпербензойна кислота), пероксоалканові кислоти, наприклад, пероксооцтова кислота, алкілгідропероксиди, наприклад, трет-бутилгідропероксид. Придатними розчинниками, наприклад, є, наприклад, вода, нижчі алканоли, наприклад етанол тощо, вуглеводні, наприклад толуол, кетони, наприклад 2-бутанон, галогеновані вуглеводні, наприклад дихлорметан, і суміші таких розчинників.

Таким чином, у конкретному варіанті здійснення даний винахід стосується сполуки формули (I), де R³ являє собою Het, і при цьому Het являє собою оксид необов'язково заміщеного піридинільного радикалу, описаного в даному документі, тобто необов'язково заміщений радикал у вигляді піридиніумілоксиду.

Термін "суб'єкт", використовуваний у даному документі, стосується тварини, переважно ссавця, більш переважно людини, які є або були об'єктом лікування, спостереження або експерименту.

Термін "терапевтично ефективна кількість", використовуваний у даному документі, означає таку кількість активної сполуки або фармацевтичного засобу, що викликає біологічний або медичний ефект у системі тканин, у тварини або людини, який бажає отримати дослідник, ветеринар, лікар або інший клініцист, що включає полегшення симптомів захворювання або розладу, лікування якого здійснюють.

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

Раніше й далі в даному документі мається на увазі, що термін "сполука формули (I)" включає її солі приєднання, сольвати та стереоізомери.

Терміни "стереоізомери" або "стереохімічно ізомерні форми" раніше та далі у даному документі використовуються взаємозамінно.

Даний винахід включає всі стереоізомери сполуки формули (I) або у вигляді чистого стереоізомеру, або у вигляді суміші двох або більше стереоізомерів.

Енантіомери являють собою стереоізомери, які являють собою дзеркальні відображення, що не збігаються при накладанні одне на одне. Суміш 1:1 пари енантіомерів являє собою рацемат або рацемічну суміш. Діастереомери (або діастереоізомери) являють собою стереоізомери, які не є енантіомерами, тобто вони не співвідносяться як дзеркальні відображення. Таким чином, даний винахід включає енантіомери, діастереомери, рацемати.

У сполуках згідно з даним винаходом зв'язки, показані у вигляді клину з паралельних ліній (·····), являють собою зв'язки, які проектується під площиною графічного відображення, тоді як зв'язки, показані жирною клиновидною лінією (—), являють собою зв'язки, які проектується над площиною графічного відображення.

Абсолютну конфігурацію визначають згідно із системою Кана-Інгольда-Прелога. Конфігурація при асиметричному атомі визначається як R або як S. Розділені сполуки, абсолютна конфігурація яких невідома, можуть бути позначені як (+) або (-) залежно від напрямку, в якому вони обертають плоскополяризоване світло.

Якщо вказаний конкретний стереоізомер, це означає, що вказаний стереоізомер практично не містить інші ізомери, тобто зв'язаний із менш ніж 50%, переважно менш ніж 20%, більш переважно менш ніж 10%, ще більш переважно менш ніж 5%, зокрема менш ніж 2% і найбільш переважно менш ніж 1% інших ізомерів. Таким чином, якщо сполука формули (I) вказана, наприклад, як (R), це означає, що сполука практично не містить ізомеру (S).

Крім того, передбачається, що деякі з кристалічних форм для сполук за даним винаходом можуть існувати у вигляді поліморфів і як такі включені в даний винахід. Крім того, деякі сполуки за даним винаходом можуть утворювати сольвати з водою (тобто гідрати) або звичайними органічними розчинниками, при цьому також передбачається, що такі сольвати охоплюються обсягом даного винаходу.

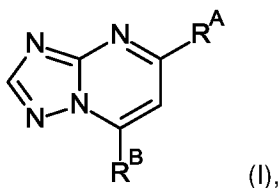
Для застосування в медицині солі сполук за даним винаходом стосуються нетоксичних "фармацевтично прийнятних солей". Однак під час одержання сполук згідно з даним винаходом або їхніх фармацевтично прийнятних солей можуть бути застосовні інші солі. Придатні фармацевтично прийнятні солі сполук включають солі приєднання кислот, які можуть бути утворені, наприклад, шляхом змішування розчину сполуки з розчином фармацевтично прийнятної кислоти, такої як хлористоводнева кислота, сірчана кислота, фумарова кислота, малеїнова кислота, янтарна кислота, оцтова кислота, бензойна кислота, лимонна кислота, винна кислота, вугільна кислота або фосфорна кислота. Крім того, якщо сполуки за даним винаходом несуть кислотний фрагмент, то їх придатні фармацевтично прийнятні солі можуть включати солі лужних металів, наприклад, солі натрію або калію; солі лужноземельних металів, наприклад, солі кальцію або магнію; та солі, утворені за допомогою придатних органічних лігандів, наприклад, солі четвертинного амонію.

Типові кислоти, які можна застосовувати під час одержання фармацевтично прийнятних солей, включають без обмеження наступні: оцтову кислоту, 2,2-дихлор оцтову кислоту, ацильовані амінокислоти, адипінову кислоту, альгінову кислоту, аскорбінову кислоту, L-аспарагінову кислоту, бензолсульфову кислоту, бензойну кислоту, 4-ацетамідобензойну кислоту, (+)-камфорну кислоту, камфорсульфову кислоту, капринову кислоту, капронову кислоту, каприлову кислоту, коричну кислоту, лимонну кислоту, цикламову кислоту, етан-1,2-дисульфову кислоту, етансульфову кислоту, 2-гідроксietансульфову кислоту, мурашину кислоту, фумарову кислоту, галактарову кислоту, гентизинову кислоту, глюкогептонову кислоту, D-глюконову кислоту, D-глюкуронову кислоту, L-глутамінову кислоту, бета-оксиглутарову кислоту, гліколеву кислоту, гіпурову кислоту, бромистоводневу кислоту, хлористоводневу кислоту, (+)-L-молочну кислоту, (±)-DL-молочну кислоту, лактобіонову кислоту, малеїнову кислоту, (-)-L-яблучну кислоту, малонову кислоту, (±)-DL-мигдальну кислоту, метансульфову кислоту, нафталін-2-сульфову кислоту, нафталін-1,5-дисульфову кислоту, 1-гідрокси-2-нафтоїну кислоту, нікотинову кислоту, азотну кислоту, олеїнову кислоту, оротову кислоту, щавлеву кислоту, пальмітинову кислоту, памову кислоту, фосфорну кислоту, L-піроглутамінову кислоту, саліцилову кислоту, 4-аміносаліцилову кислоту, себацінову кислоту, стеаринову кислоту, янтарну кислоту, сірчану кислоту, дубильну кислоту, (+)-L-винну кислоту, тіюціанову кислоту, п-толуолсульфову кислоту, трифторметилсульфову кислоту та ундециленову кислоту. Типові основи, які можна застосовувати під час одержання фармацевтично прийнятних солей, включають без обмеження наступні: аміак, L-аргінін, бенетамін, бензатин, гідроксид кальцію, холін, диметилетаноламін, діетаноламін, діетиламін, 2-(діетиламіно)етанол, етаноламін, етилендіамін, N-метилглюкамін, гідрабамін, 1H-імідазол, L-лізин, гідроксид магнію, 4-(2-гідроксиетил)морфолін, піперазин, гідроксид калію, 1-(2-гідроксиетил)піролідін, вторинний амін, гідроксид натрію, триетаноламін, трометамін і гідроксид цинку.

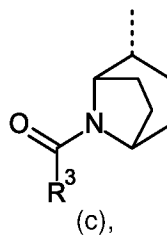
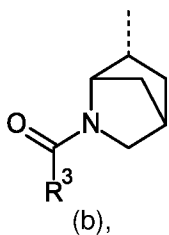
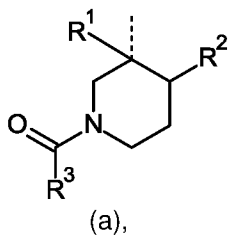
Назви сполук за даним винаходом були складені відповідно до правил номенклатури, прийнятих Хімічною реферативною службою (CAS), з використанням програмного забезпечення Advanced Chemical Development, Inc. (версія продукту ACD/Name 10.01; Build 15494, 1 грудня 2006 р., або версія продукту ACD/ChemSketch 12.5; Build 47877, 20 квітня 2011), або відповідно до правил номенклатури, прийнятих Міжнародним союзом теоретичної та прикладної хімії (IUPAC), з використанням програмного забезпечення Advanced Chemical Development, Inc. (версія продукту ACD/Name 10.01.0.14105, жовтень 2006). У випадку таутомерних форм складали назву представленої таутомерної форми структури. Інша не представлена таутомерна форма також включена в обсяг даного винаходу.

Даний винахід спрямований на сполуки формули (I), визначені у даному документі вище, та їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

В одному варіанті здійснення даний винахід спрямований на сполуки формули (I),

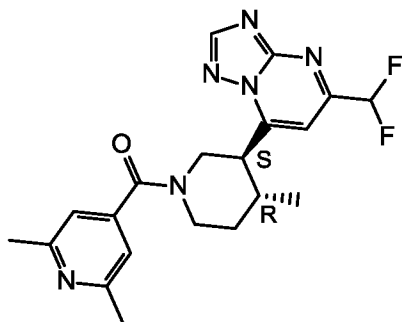


- та їх стереоізомерні форми, де
 R^A вибраний із групи, яка складається з H, CH_3 , CN і CHF_2 ;
 R^B являє собою радикал, вибраний із групи, яка складається з (a), (b) і (c):



- де
 R^1 являє собою H, F або CH_3 ;
 R^2 являє собою H або C_{1-4} алкіл, зокрема метил або н-бутил; за умови, що якщо R^2 являє собою H, то R^1 являє собою F або CH_3 ;
 R^3 являє собою Ar або Het; де
 Ar являє собою феніл, необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; CN; OH; C_{1-6} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-6} алкілу, заміщеного CN; C_{3-6} циклоалкілу та C_{1-6} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;
 Het являє собою
 (i) 5-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1H-піролілу; тієнілу; фуранілу; 1H-піразолілу; 1H-імідазолілу; 1,2-оксазолілу; 1,3-оксазолілу та тіазолілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; $\text{NR}^{3A}\text{R}^{3B}$, де кожен із R^{3A} і R^{3B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; та фуран-2-ілу; або
 (ii) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; CN; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, де кожен із R^{4A} і R^{4B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або
 (iii) 8-10-членний біциклічний частково ненасичений гетероцикліл, вибраний із групи, яка складається з 2,3-дигідро-1-бензофуранілу; 2H-хроменілу; 3,4-дигідро-2H-хроменілу; 2,3-дигідро-1H-індолілу, необов'язково заміщеного в положенні 1 C_{1-4} алкілом, метилсульфонілом, 1-ацетиллом або фторацетиллом; 2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолілу; 1,3-бензодіоксолілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою метил; 5,6,7,8-тетрагідрімідазо[1,2-a]піридинілу; 5,6,7,8-тетрагідріхінолінілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою атом галогену; та 2,3-дигідропіразоло[5,1-b][1,3]оксазолілу; або
 (iv) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1H-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолінілу; 1H-бензімідазолілу; імідазо[1,2-a]піридинілу; піразоло[1,5-a]піридинілу; 1H-тієно[2,3-c]піразолілу; тієно[3,2-b]піридинілу; хінолінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, де кожен із R^{5A} і R^{5B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;

за умови, що сполука не являє собою сполуку



;

та їх фармацевтично прийнятні солі та сольвати.

У конкретному варіанті здійснення R^A являє собою CH_3 або CHF_2 ; і решта змінних визначена в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^B вибраний із групи, яка складається з (а) та (с), і решта змінних визначена в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^A являє собою CH_3 або CHF_2 ; R^B вибраний із групи, яка складається з (а) та (с), і решта змінних визначена в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^1 являє собою H , та R^2 являє собою C_{1-4} алкіл, зокрема метил або n -бутил; і решта змінних визначена в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^3 являє собою Het , і решта змінних визначена в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^3 являє собою

(i) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH ; CN ; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, де кожен із R^{4A} і R^{4B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або

(ii) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1H-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1H-бензімідазолілу; імідазо[1,2-а]піридинілу; піразоло[1,5-а]піридинілу; 1H-тієно[2,3-с]піразолілу; тієно[3,2-б]піридинілу; хінолінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH ; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, де кожен із R^{5A} і R^{5B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;

і решта змінних визначена в даному документі.

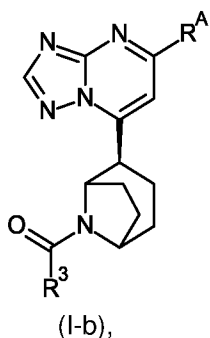
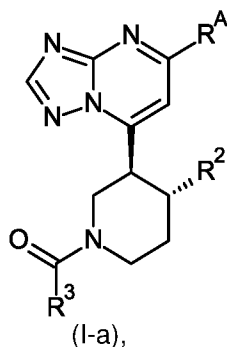
У додатковому варіанті здійснення R^3 являє собою

(i) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, де кожен із R^{4A} та R^{4B} незалежно вибраний із H та CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або

(ii) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1H-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1H-бензімідазолілу; імідазо[1,2-а]піридинілу; піразоло[1,5-а]піридинілу; 1H-тієно[2,3-с]піразолілу; тієно[3,2-б]піридинілу; хінолінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, де кожен із R^{5A} і R^{5B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;

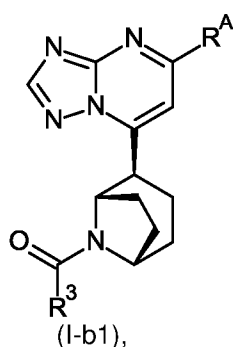
і решта змінних визначена в даному документі.

В одному варіанті здійснення сполука формули (I), визначена в даному документі, являє собою, зокрема, сполука формули (I-a) або (I-b),



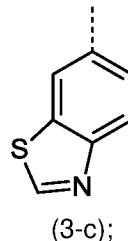
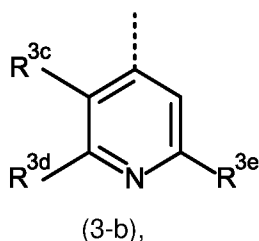
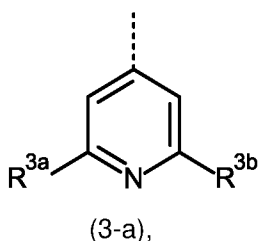
5 де всі змінні визначені в даному документі.

Більш конкретно, сполука формули (I), визначена в даному документі, характеризується формулою (I-b1),



10 де всі змінні визначені в даному документі.

У конкретному варіанті здійснення R^3 являє собою радикал, вибраний із групи, яка складається з (3-a), (3-b) та (3-c).



15 де

кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із групи, яка складається з водню; галогену; CN; $NR^{4a}R^{4b}$, де кожен із R^{4a} і R^{4b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та

R^{3c} вибраний із групи, яка складається з F, Cl, C_{1-3} алкілу, циклопропілу, C_{1-3} алкілокси, циклопропілокси та CF_3 ; та кожен із R^{3d} і R^{3e} незалежно вибраний із групи, яка складається з водню, Cl, CN, C_{1-3} алкілу, циклопропілу, C_{1-3} алкілокси, циклопропілокси, CHF_2 , CF_3 , $OCHF_2$ та OCF_3 ; за умови, що R^{3d} і R^{3e} одночасно не являють собою водень.

20 Зокрема, кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із групи, яка складається з водню; хлору; - NH_2 ; C_{1-4} алкілу; $-CF_3$; циклопропілу; $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; $-OCHF_2$ та $-OCF_3$.

Більш конкретно, кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із групи, яка складається з хлору; C_{1-4} алкілу; $-CF_3$; циклопропілу; $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; $-OCHF_2$ та $-OCF_3$.

Зокрема, R^{3a} являє собою Cl або CH_3 , і R^{3b} вибраний із групи, яка складається з CH_3 , $-OCH_3$, $-CF_3$ та циклопропілу.

У додатковому варіанті здійснення R^{3a} являє собою Cl або CH_3 , і R^{3b} являє собою CH_3 або $-OCH_3$.

Зокрема, R^{3c} вибраний із групи, яка складається з F, CH_3 та $-OCH_3$; R^{3d} вибраний із групи, яка складається з водню, CH_3 , циклопропілу та $-OCH_3$; і R^{3e} вибраний із групи, яка складається з Cl, CH_3 , циклопропілу, $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; циклопропілокси; CHF_2 та $OCHF_2$. У додатковому варіанті здійснення R^{3c} являє собою F.

У додатковому варіанті здійснення сполука згідно з даним винаходом являє собою сполуку, яка характеризується формулою (I-a), де R^2 являє собою C_{1-4} алкіл, зокрема метил або н-бутил.

ОДЕРЖАННЯ СПОЛУК

Експериментальна процедура 1

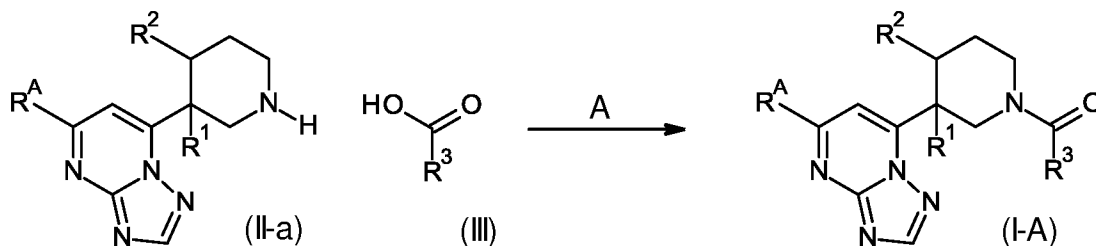


Схема реакції 1a

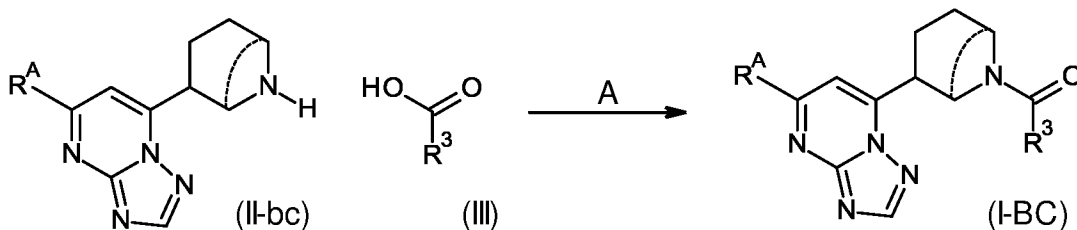


Схема реакції 1b

A: сполучення з утворенням амідного зв'язку

Кінцеві сполуки, де R^B являє собою радикал формули (a) або формули (b) або (c), позначені у даному документі як сполуки формули (I-A) та формули (I-BC), де ---- являє собою CH_2 або CH_2CH_2 відповідно, можуть бути традиційно одержані шляхом проведення реакції з відповідною карбоною кислотою (III) згідно з відомими в даній галузі техніки процедурами сполучення (стадія реакції A). Вказане перетворення традиційно можна проводити шляхом обробки функціональної групи піперидинового типу у проміжних сполуках формули (II-a) або (II-b) за допомогою засобу для реакції сполучення, такого як HBTU або EDCI, у присутності основи, такої як DIPEA та триетиламін, у придатному реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, DCM або DMF тощо, за придатної температури, наприклад, за кімнатної температури; альтернативно, проміжні сполуки формули (II-a) або (II-b) можуть реагувати з фосфоновим ангідридом, таким як 1-пропанфосфоновий ангідрид, у присутності відповідної основи, такої як триетиламін, у придатному реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, сухий ACN. Карбонові кислоти формули (III) або є комерційно доступними, або можуть бути одержані згідно з процедурами, відомими у даній галузі техніки.

Експериментальна процедура 2

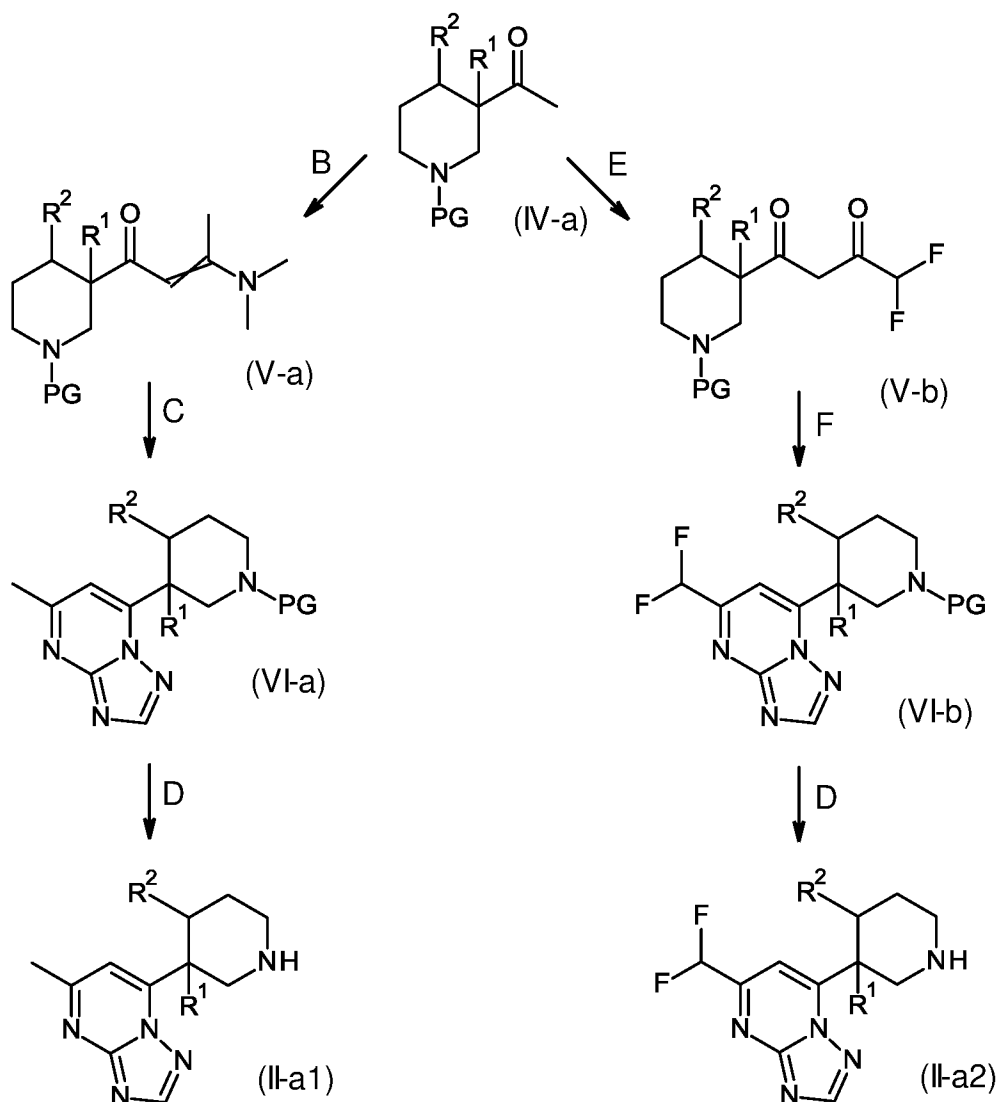


Схема реакції 2

В: реакція з диметилацеталем N,N-диметилацетаміду

С, F: реакція з гідрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-аміну

D: відщеплення захисної групи

Е: реакція з етиловим естером 2,2-дифтороцтової кислоти

Утворення проміжних сполук формули (II-a), наприклад, де R^A являє собою метил або CHF₂, позначених у даному документі як проміжні сполуки формули (II-a1) та (II-a2), відповідно можна забезпечувати з проміжних сполук формули (IV-a), де PG являє собою придатну захисну групу для аміногрупи, таку як, наприклад, трет-бутилоксикарбоніл (Boc).

Можна проводити реакцію з чистим диметилацеталем N,N-диметилацетаміду за температурних умов, таких як, наприклад, нагрівання при 100 °C.

Реакцію з етиловим естером 2,2-дифтороцтової кислоти можна проводити у присутності основи, такої як KO^tBu, у реакційно-інертному розчиннику, такому як толуол, за відповідної температури, такої як 0-5 °C, потім за к. т.

Біциклічне ядро може бути утворене за допомогою реакції проміжних сполук (V-a) або (V-b) з гідрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-аміну у реакційно-інертному розчиннику, такому як, наприклад, DMF, за температурних умов, таких як, наприклад, нагрівання при 80 °C. У випадку з (V-b)-(VI-b), захисна група може бути нестійкою та може бути необхідною наступна стадія введення захисних груп.

Відщеплення захисної групи у проміжних сполуках (VI-a) або (VI-b) можна проводити згідно з процедурами, відомими у даній галузі техніки, наприклад, якщо захисна група являє собою Boc, відщеплення можна проводити в кислому середовищі, такому як, наприклад, HCl у MeOH при RT, або TFA у DCM.

Експериментальна процедура 3

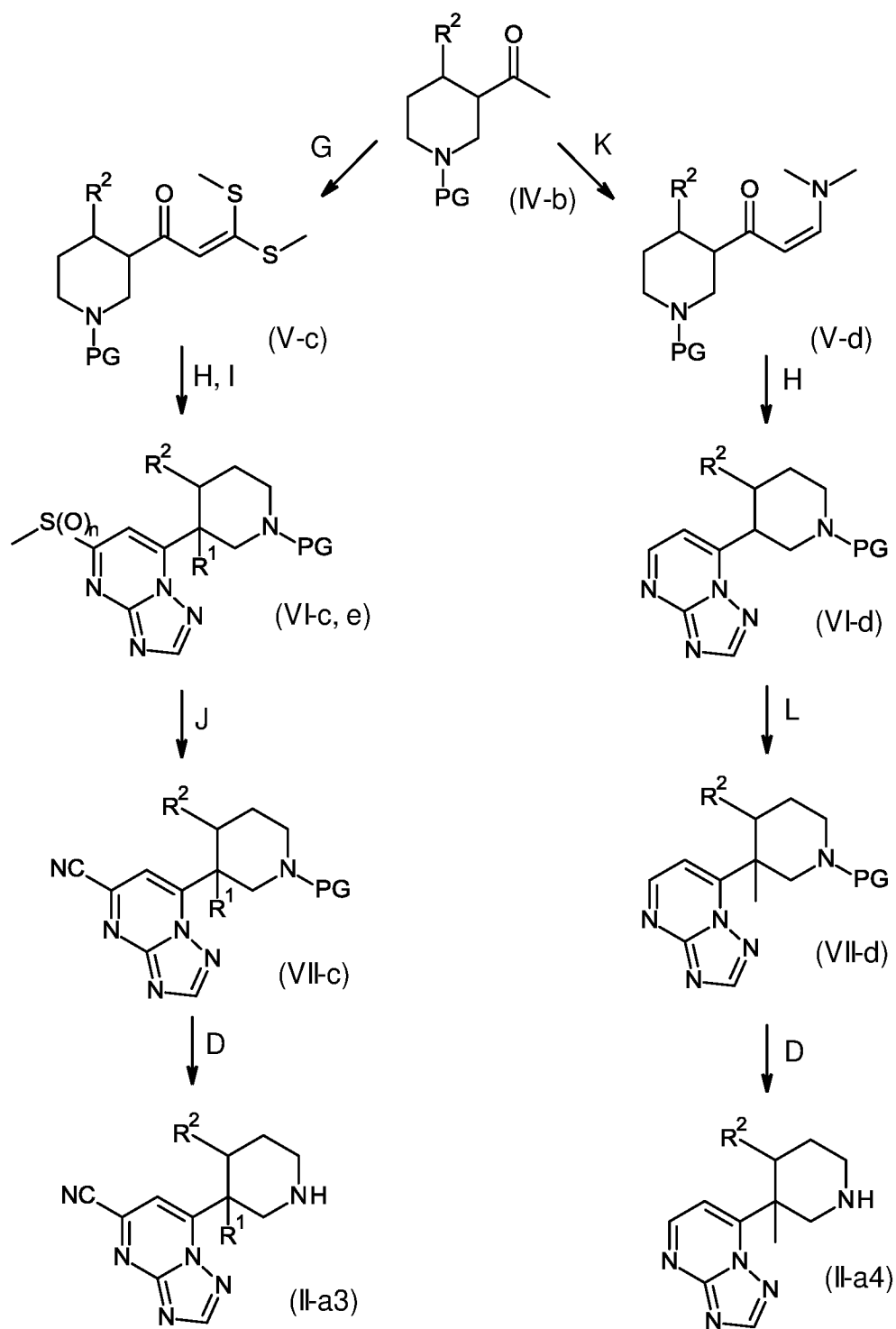


Схема реакції 3

G: реакція з карбондисульфідом та метилйодидом

5 H, L: реакція з гідрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-аміну

I: окиснення

J: реакція з NaCN

K: реакція з диметилацеталем N,N-диметилформаміду

L: метилювання

10 D: відщеплення захисної групи

Проміжні сполуки формули (II-a), де R^A являє собою ціано, позначені у даному документі як (II-a3), або де R^A являє собою водень, і R^1 являє собою метил, позначені у даному документі як (II-a4), можна одержати згідно з низкою стадій синтезу з проміжних сполук формули (IV-b), які або є комерційно доступними, або одержані згідно з процедурами, відомими в даній галузі техніки (наприклад, $R^2=H$ або метил, $PG=Hoc$).

Таким чином, реакція з карбондисульфідом, потім з метилйодидом у присутності основи, такої як NaN , та реакційно-інертного розчинника, такого як THF, при $0^\circ C$ забезпечує одержання сполуки (V-c), яку потім можна піддавати реакції з гідрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-5-аміну за умов, описаних у даному документі, таким чином забезпечуючи одержання (VI-c, $n=0$) з наступним окисненням за допомогою відповідної пероксикислоти, такої як, наприклад, mCPBA, у присутності реакційно-інертного розчинника, такого як, наприклад, DCM або $CHCl_3$, з одержанням (VI-e, $n=2$). Витіснення метилсульфонової групи джерелом ціаніду, таким як, наприклад, $NaCN$ у DMSO, забезпечує одержання сполуки (VII-c), яку можна піддавати відщепленню захисної групи за умов, описаних у даному документі.

Можна проводити реакцію чистої сполуки (IV-b) з диметилацеталем N,N-диметилформаміду за температурних умов, таких як нагрівання зі зворотним холодильником. Реакція з гідрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-аміну за умов, описаних у даному документі, забезпечує одержання сполуки (VI-d), яку можна метилювати за умов, відомих у даній галузі техніки, таких як, наприклад, шляхом проведення її реакції з метилйодидом у присутності основи, такої як NaN , у реакційно-інертному розчиннику, такому як DMF. Наступне відщеплення захисної групи за умов, описаних у даному документі, забезпечує одержання проміжної сполуки (II-a4).

Експериментальна процедура 4

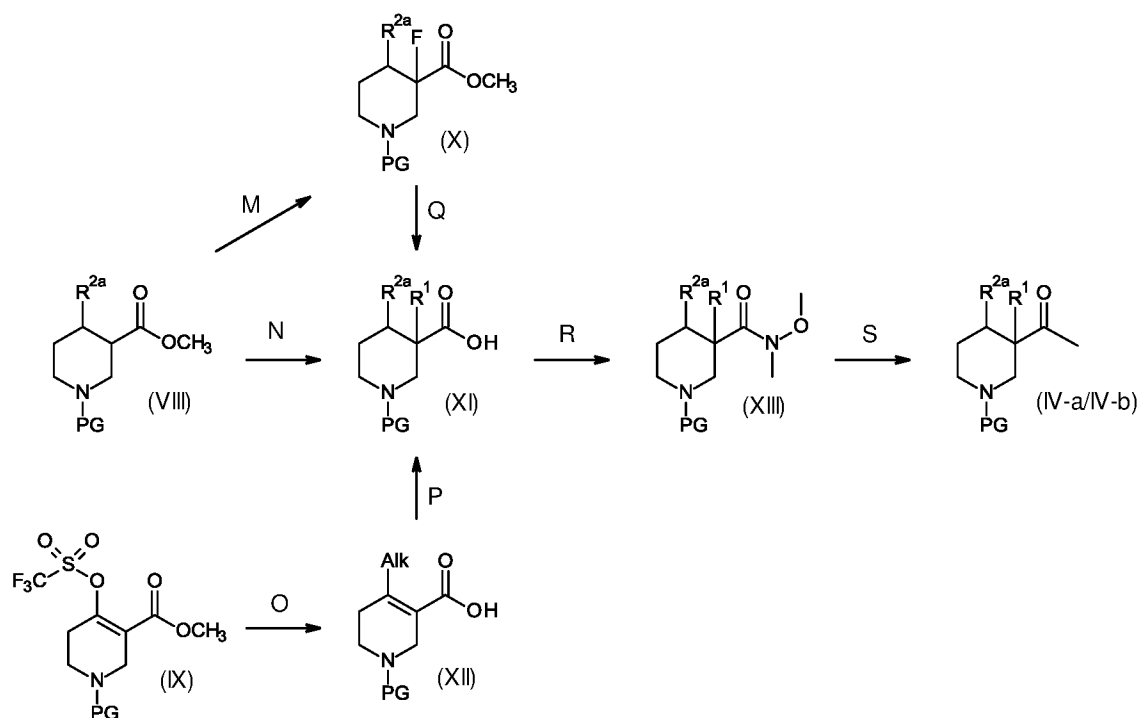


Схема реакції 4

M: фторування

N: метилювання та/або омилення

X: відновлення

O: реакція за Судзукі (алкілювання) та омилення

P: гідрогенізація

Q: омилення

R: утворення амідів Вайнреба

S: перетворення амідів на кетон (наприклад, реакція за Гріньяром)

Утворення проміжних сполук (IV-a) або (IV-b) може бути здійснене за допомогою низки взаємоперетворень функціональних груп, починаючи з проміжних сполук (VIII), (IX) або (X), які або є комерційно доступними, або одержані, наприклад, згідно з процедурами, такими як описані в даному документі.

Сполуки формули (VIII), де R^{2a} являє собою водень або метил, та PG являє собою Вос або є комерційно доступними, або одержані згідно з низкою відомих процедур, таких як описані у даному документі. Їх можна фторувати або алкілювати згідно з процедурами, відомими у даній галузі техніки, такими як шляхом проведення реакції з N-фторбензолсульфонімідом у присутності основи, такої як LDA, у реакційно-інертному розчиннику, такому як THF, або шляхом алкілювання за допомогою алкілідиду після обробки за допомогою основи, такої як LiHMDS; при цьому необов'язково наступне омилення за умов, відомих у даній галузі техніки, забезпечує одержання сполуки (XI).

Сполуки формули (IX) також відомі у даній галузі техніки та їх можна алкілювати за допомогою процедур типу реакції за Судзукі із застосуванням умов, відомих фахівцю у даній галузі, таких як застосування боронових кислоти/естера, у присутності каталізатора, такого як $Pd(PPh_3)_4$, у реакційно-інертному розчиннику, такому як 1,4-діоксан, за температурних умов, таких як нагрівання. Наступне омилення та гідрогенізація за умов, аналогічних описаним у даному документі, забезпечують одержання проміжної сполуки формули (XI).

Наступне утворення амиду Вайнреба та перетворення амиду на кетон за допомогою реакції за Гріньяром, описані у даному документі, забезпечують одержання необхідних проміжних сполук (IV-a) або (IV-b).

Експериментальна процедура 5

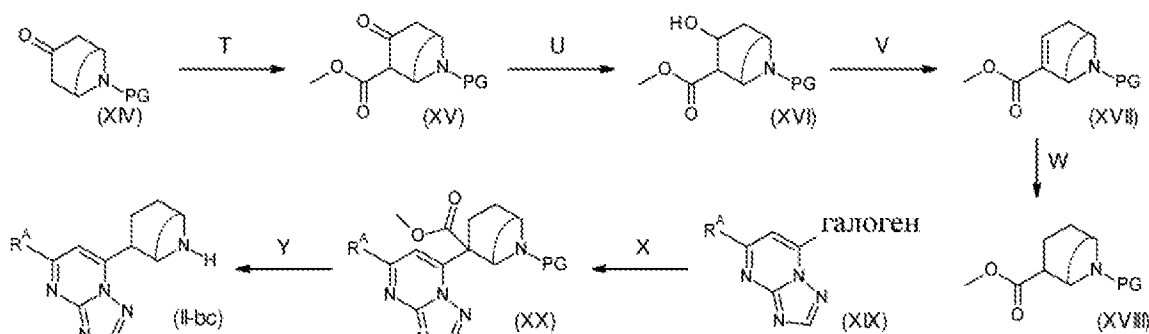


Схема реакції 5

T: реакція з метилціаноформіатом

U: відновлення

V: дегідрування

W: гідрогенізація

X: сполучення

Y: декарбоксилування та відщеплення захисної групи

Утворення проміжних сполук формули (II-bc), де ---- являє собою CH_2 або CH_2CH_2 , можна здійснювати за допомогою низки стадій синтезу, починаючи з комерційно доступних вихідних речовин формули (XIV), таких як N-Вос-нортропіон [185099-67-6] або 6-Вос-3-оксо-6-азабікло[3.1.1]гептан [1246281-86-6]. Реакція з метилціаноформіатом у присутності основи, такої як $nBuLi$ та $NHPr_2$, у реакційно-інертному розчиннику, такому як THF, за відповідної температури, такої як при $-78^\circ C$, забезпечує одержання кетоестера (XV), який потім можна відновити за умов, відомих у даній галузі техніки, за допомогою $NaBH_4$, наприклад, у MeOH за приблизно $0^\circ C$ та потім дегідрувати за допомогою, наприклад, трифтороцтового ангідриду у присутності основи, такої як триетиламін та DMAP, у реакційно-інертному розчиннику, такому як DCM, при цьому підтримуючи температуру нижче $60^\circ C$. Гідрогенізація за умов, відомих у даній галузі техніки, таких як, наприклад, у присутності паладію на вугіллі як каталізатора у MeOH, забезпечує одержання проміжної сполуки (XVIII), яку потім можна піддавати реакції з проміжними сполуками формули (XIX), які або є комерційно доступними, або одержані згідно з процедурами, відомими в даній галузі техніки, у присутності основи, такої як наприклад LDA, у реакційно-інертному розчиннику, такому як THF, за температури від -78 до $-60^\circ C$. Реакція з концентрованою HCl за температурних умов, таких як, наприклад, нагрівання при $150^\circ C$, забезпечує одержання проміжної сполуки (II-bc) з одночасним відщепленням захисної групи, якщо вона є нестійкою до дії кислот, такою як, наприклад, Вос. Альтернативний спосіб одержання проміжної сполуки формули (II-bc), де R^A являє собою CHF_2 , та --- являє собою CH_2CH_2 , з комерційно доступної вихідної речовини описаний у даному документі у прикладах.

ФАРМАКОЛОГІЯ

Сполуки згідно з даним винаходом інгібують активність ферменту PDE2, зокрема PDE2A, та, як наслідок, підвищують рівні cAMP або cGMP у клітинах, що експресують PDE2. Відповідно, інгібування активності ферменту PDE2 може бути застосовним у лікуванні захворювань, зумовлених недостатніми кількостями cAMP або cGMP у клітинах. Інгібітори PDE2 також можуть

5 бути корисні в тих випадках, коли підвищення кількості cAMP або cGMP вище нормальних рівнів приводить в результаті до терапевтичного ефекту. Інгібітори PDE2 можна застосовувати для лікування неврологічних та психічних розладів.

Таким чином, даний винахід стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для застосування як лікарського

10 препарату, а також застосування сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом, або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату. Даний винахід також стосується сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом, або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні або

15 попередженні, зокрема лікуванні, стану у ссавця, у тому числі у людини, лікування або попередження якого залежить від інгібування ферменту фосфодіестерази 2 або полегшується ним. Даний винахід також стосується застосування сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом, або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату для лікування або попередження,

20 зокрема лікування, стану у ссавця, у тому числі у людини, лікування або попередження якого залежить від інгібування ферменту фосфодіестерази 2 або полегшується ним.

Даний винахід також стосується сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом, або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні, попередженні, зменшенні інтенсивності вияву,

25 контролі або зниженні ризику виникнення різних неврологічних та психічних розладів, асоційованих із порушенням функції фосфодіестерази 2, у ссавця, у тому числі у людини, лікування або попередження яких залежить від інгібування фосфодіестерази 2 або полегшується ним.

Окрім того, даний винахід стосується застосування сполуки формули (I), або її

30 фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом, або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату для лікування, попередження, зменшення інтенсивності вияву, контролю або зниження ризику розвитку різних неврологічних та психічних розладів, асоційованих із порушенням функції фосфодіестерази 2, у ссавця, у тому числі у людини, лікування або попередження яких залежить від інгібування

35 фосфодіестерази 2 або полегшується ним.

Якщо зазначається, що даний винахід стосується застосування сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або композиції згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату, наприклад, для лікування суб'єкта, наприклад, ссавця, то

40 мається на увазі, що таке застосування необхідно розуміти в певних сферах як спосіб, наприклад, лікування суб'єкта, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, наприклад, лікування, ефективної кількості сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або композиції згідно з даним винаходом.

Зокрема, показання, які можна лікувати за допомогою інгібіторів PDE2 окремо або в комбінації з іншими лікарськими засобами, включають без обмеження такі захворювання, які, як

45 вважають, частково опосередковані базальними гангліями, префронтальною корою та гіпокампом.

Ці показання включають неврологічні та психічні розлади, вибрані з психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром

50 дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; розладів, пов'язаних із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті; інсульту й аутичного розладу або аутизму.

Зокрема, психотичні розлади та стани, асоційовані з порушенням функції PDE2, включають один або декілька із наступних станів або захворювань: шизофренія, наприклад, параноїдального, дезорганізованого, кататонічного, недиференційованого або резидуального

55 типу; шизофреноформний розлад; шизоафективний розлад, як, наприклад, маніакального або депресивного типу; маніакальний розлад; психотичний розлад, викликаний вживанням певних речовин, такий як психоз, викликаний вживанням алкоголю, амфетаміну, марихуани, кокаїну, галюциногенних речовин, летких речовин наркотичної дії, опіоїдів або фенциклідину; розлади особистості параноїдального типу і розлад особистості шизоїдного типу.

Зокрема, тривожні розлади включають панічний розлад; агорафобію; специфічну фобію, соціофобію; obsесивно-компульсивний розлад; посттравматичний стресовий розлад, гострий стресовий розлад та генералізований тривожний розлад.

Зокрема, рухові розлади включають хворобу Хантінгтона та дискінезію; хворобу Паркінсона; синдром неспокійних ніг і есенціальний тремор. Окрім того, можуть бути включені синдром Туретта й інші тикові розлади.

Зокрема, розлад центральної нервової системи являє собою розлад, пов'язаний із вживанням певних речовин, вибраний із групи зловживання алкоголем; алкогольної залежності; алкогольного абстинентного синдрому; алкогольного абстинентного синдрому з делірієм; психотичного розладу, викликаного вживанням алкоголю; амфетамінової залежності; амфетамінового абстинентного синдрому; кокаїнової залежності; кокаїнового абстинентного синдрому; нікотинової залежності; нікотинного абстинентного синдрому; опіоїдної залежності та опіоїдного абстинентного синдрому.

Зокрема, афективні розлади та афективні епізоди включають депресію, манію та біполярні розлади. Переважно афективний розлад вибраний із групи біполярних розладів (I і II типу); циклотимічного розладу; депресії; дистимічного розладу; значного депресивного розладу; терапевтично резистентної депресії та афективного розладу, викликаного вживанням певних речовин.

Зокрема, нейродегенеративні розлади включають хворобу Паркінсона; хворобу Хантінгтона; деменцію, таку як, наприклад, хвороба Альцгеймера; мультиінфарктну деменцію; СНІД-асоційовану деменцію або лобно-скроневу деменцію. Нейродегенеративний розлад або стан включає дисфункцію реакцій стріарних середніх шипиків нейронів.

Зокрема, розлади або стани, що включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності, включають деменцію, таку як хвороба Альцгеймера; мультиінфарктну деменцію; деменцію, зумовлену хворобою із тільцями Леві; алкогольну деменцію або стійку деменцію, викликану вживанням певних речовин; деменцію, асоційовану із внутрішньочерепними пухлинами або черепно-мозковою травмою; деменцію, асоційовану із хворобою Хантінгтона; деменцію, асоційовану із хворобою Паркінсона; СНІД-асоційовану деменцію; деменцію, зумовлену хворобою Піка; деменцію, зумовлену хворобою Крейтцфельда-Якоба; інші захворювання, що включають делірій; амнестичний розлад; посттравматичний стресовий розлад; інсульт; прогресуючий над'ядерний параліч; олігофренію; порушення здатності до навчання; синдром дефіциту уваги/гіперактивності (ADHD); помірний когнітивний розлад; синдром Аспергера; вікове когнітивне порушення та когнітивне порушення, пов'язане зі сприйняттям, увагою, навчанням або пам'яттю.

Зокрема, розлади, пов'язані із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті, включають розлади пам'яті, як, наприклад, вікова втрата пам'яті, амнезія.

Переважно психотичний розлад вибраний із групи шизофренії, маніакальних розладів, шизоафективних розладів, шизофреноформних розладів та психотичного розладу, викликаного вживанням певних речовин.

Переважно розлад центральної нервової системи являє собою розлад особистості, вибраний із групи obsесивно-компульсивного розладу особистості та шизоїдного, шизотипічного розладу.

Переважно розлад центральної нервової системи являє собою афективний розлад, вибраний із групи біполярних розладів (I та II типу), циклотимічного розладу, депресії, дистимічного розладу, значного депресивного розладу; терапевтично резистентної депресії та афективного розладу, викликаного вживанням певних речовин.

Переважно розлад центральної нервової системи являє собою синдром дефіциту уваги/гіперактивності.

Переважно розлад центральної нервової системи являє собою когнітивний розлад, вибраний із групи делірію, стійкого делірію, викликаного вживанням певних речовин, деменції, деменції, зумовленої ВІЛ-захворюванням, деменції, зумовленої хворобою Хантінгтона, деменції, зумовленої хворобою Паркінсона, деменції альцгеймерівського типу, стійкої деменції, викликаній вживанням певних речовин, та помірного когнітивного порушення.

Переважно розлади, що підлягають лікуванню за допомогою сполук формули (I) або їхньої фармацевтично прийнятних солі або сольвату за даним винаходом, вибрані із шизофренії; obsесивно-компульсивного розладу; генералізованого тривожного розладу; хвороби Хантінгтона; дискінезії; хвороби Паркінсона; депресії; біполярних розладів; деменції, такої як хвороба Альцгеймера; синдрому дефіциту уваги/гіперактивності; наркотичної залежності; інсульту й аутизму.

Переважно розлади, що підлягають лікуванню за допомогою сполук формули (I) або їхніх фармацевтично прийнятних солі або сольвату за даним винаходом, являють собою шизофренію, в тому числі її позитивні та негативні симптоми, а також порушення пізнавальних здібностей, таких як погіршення уваги або пам'яті.

Серед згаданих вище розладів особливе значення має лікування тривожності, obsесивно-компульсивного розладу, посттравматичного стресового розладу; генералізованого тривожного розладу, шизофренії, депресії, синдрому дефіциту уваги/гіперактивності, хвороби Альцгеймера, деменції, зумовленої хворобою Хантінгтона, деменції, зумовленої хворобою Паркінсона, деменції альцгеймерівського типу, стійкої деменції, викликаній вживанням певних речовин, та помірного когнітивного порушення.

Серед згаданих вище розладів особливе значення має лікування тривожності, obsесивно-компульсивного розладу, шизофренії, депресії, синдрому дефіциту уваги/гіперактивності та хвороби Альцгеймера.

Інші розлади центральної нервової системи включають тривожний розлад, асоційований із шизофренією, та коморбідну депресію і тривожність, зокрема значний депресивний розлад із коморбідним генералізованим тривожним розладом, соціальним тривожним розладом або панічним розладом; при цьому варто розуміти, що коморбідна депресія та тривожність також можуть позначатися термінами "депресія, що супроводжується тривожністю", "змішані тривожність та депресія", "змішаний тривожний та депресивний розлад" або "великий депресивний розлад із симптомами тривожності", які використовуються в даному документі без обмеження.

У даний час у четвертому виданні Посібника з діагностики та статистики психічних розладів (DSM-IV) Американської психіатричної асоціації представлений спосіб діагностики для ідентифікації розладів, описаних у даному документі. Фахівцю у даній галузі буде зрозуміло, що для неврологічних і психічних розладів, описаних у даному документі, існують альтернативні системи номенклатури, нозологічні підходи та системи класифікації, і що вони видозмінюються разом із прогресом у галузі медицини та науковим прогресом. Наприклад, в "American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition. Arlington, VA, American Psychiatric Association, 2013" (DSM-5™) використовуються такі терміни, як депресивні розлади, зокрема значний депресивний розлад, стійкий депресивний розлад (дистимія), депресивний розлад, викликаний вживанням певних речовин/лікарських препаратів; нейрокогнітивні розлади (NCD) (як важкі, так і легкі), зокрема нейрокогнітивні розлади, зумовлені хворобою Альцгеймера, судинний NCD (такий як судинний NCD, що проявляється у вигляді множинних інфарктів), NCD, зумовлений ВІЛ-інфекцією, NCD, зумовлений травматичним пошкодженням головного мозку (TBI), NCD, зумовлений хворобою Паркінсона, NCD, зумовлений хворобою Хантінгтона, лобно-скроневий NCD, NCD, зумовлений пріонною хворобою, та NCD, викликане вживанням певних речовин/лікарських препаратів; порушення нервово-психічного розвитку, зокрема інтелектуальне порушення, специфічне порушення здатності до навчання, порушення нервово-психічного розвитку рухових функцій, комунікативний розлад і синдром дефіциту уваги та гіперактивності (ADHD); розлади, пов'язані зі вживанням певних речовин, та адиктивні розлади, зокрема розлад, пов'язаний зі вживанням алкоголю, розлад, пов'язаний зі вживанням амфетаміну, розлад, пов'язаний зі вживанням марихуани, розлад, пов'язаний зі вживанням кокаїну, розлад, пов'язаний зі вживанням інших галюциногенних речовин, розлад, пов'язаний зі вживанням тютюну, розлад, пов'язаний зі вживанням опіоїдів, і розлад, пов'язаний зі вживанням фенциклідину; розлади шизофренічного спектра та інші психотичні розлади, зокрема шизофренія, шизофреноформний розлад, шизоафективний розлад, маніакальний розлад, короткочасний психотичний розлад, психотичний розлад, викликаний вживанням певних речовин/лікарських препаратів; та циклотимічний розлад (який згідно з DSM-5™ потрапляє під категорію біполярних і споріднених із ними розладів). Такі терміни можуть застосовуватися фахівцем у даній галузі як альтернативна номенклатура для деяких захворювань або станів, які згадуються в даному документі. Додаткове порушення нервово-психічного розвитку включає розлад аутистичного спектра (ASD), який згідно з DSM-5™, охоплює розлади, раніше відомі під термінами ранній дитячий аутизм, дитячий аутизм, аутизм Каннера, високофункціональний аутизм, атипічний аутизм, первазивний розлад розвитку без додаткових уточнень, дезінтегративний розлад дитячого віку та синдром Аспергера.

Таким чином, даний винахід також стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні будь-якого із вищезгаданих у даному документі захворювань.

Даний винахід також стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для застосування у лікуванні будь-якого із вищезгаданих у даному документі захворювань.

5 Даний винахід також стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для лікування або попередження, зокрема лікування, будь-якого із вищезгаданих у даному документі захворювань.

Даний винахід також стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату для лікування або попередження будь-якого із вищезгаданих у даному документі хворобливих станів.

Даний винахід також стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом для виготовлення лікарського препарату для лікування будь-якого із вищезгаданих у даному документі хворобливих станів.

15 Сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват за даним винаходом можна вводити ссавцям, переважно людям, для лікування або попередження будь-якого із вищезгаданих у даному документі захворювань.

З огляду на користь сполук формули (I) та їх фармацевтично прийнятних солей та сольватів згідно з даним винаходом передбачений спосіб лікування вищезгаданого у даному документі розладу або захворювання, який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, або фармацевтичних композицій, описаних у даному документі.

20 Указані способи передбачають введення, тобто системне або місцеве введення, переважно пероральне введення, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом теплокровним тваринам, у тому числі людям.

Таким чином, даний винахід також стосується способу попередження та/або лікування будь-якого із вищезгаданих у даному документі захворювань, що передбачає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату згідно з даним винаходом пацієнту, який потребує цього.

30 Описаний у даному документі інгібітор PDE2 можна застосовувати окремо, в комбінації або в комбінації з іншими фармацевтичними засобами, такими як інші засоби, що застосовуються у лікуванні психозів, таких як шизофренія та біполярний розлад, obsесивно-компульсивний розлад, хвороба Паркінсона, когнітивне порушення та/або втрата пам'яті, наприклад, агоністи нікотинінових ацетилхолінових рецепторів α -7, інгібітори PDE4 (роліпрам, GEBR-7b, GSK356278, GSK256066, апреміласт, MK-0952, рофлуміласт, AN2898, AN2728, Ariflo (циломіласт), дотраверин, рономіласт (елбіміласт), реваміласт, тетоміласт, E6005, GDP-1116, HT0712, MK-0873), інгібітори PDE5 (силденафіл, варденафіл, тадалафіл, уденафіл, аванафіл, міроденафіл, лоденафіл, дазантафіл, PF-00489791), PDE9 (PF-04447943), інші інгібітори PDE2 (Bay 60-7550, PF-999, ND-7001), інгібітори PDE10 (PF-02545920, AMG579), інгібітори PDE2 та 10, блокатори кальцієвих каналів, модулятори мускаринових ацетилхолінових рецепторів m1 та m2, модулятори аденозинових рецепторів, ампакіни, модулятори NMDA-R, модулятори mGluR, модулятори дофамінових рецепторів, модулятори серотонінових рецепторів, модулятори канабіноїдних рецепторів, інгібітори HDAC (вориностат (SAHA), панобіностат, квізиностат, вальпроєва кислота) та інгібітори холінестерази (наприклад, донепезил, ривастигмін та галантамін). У випадку таких комбінацій сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват за даним винаходом можна використовувати в комбінації з одним або декількома іншими лікарськими засобами у лікуванні, попередженні, контролі, зменшенні інтенсивності вияву або зниженні ризику розвитку захворювань або станів, щодо яких сполука формули (I) або інші лікарські засоби можуть бути корисними, при цьому комбінація лікарських засобів разом є більш безпечною або більш ефективною, ніж кожен із лікарських засобів окремо.

Фахівцю у даній галузі буде зрозуміло, що терапевтично ефективною кількістю інгібітора PDE2 за даним винаходом є кількість, достатня для інгібування ферменту PDE2, і що ця кількість варіює, окрім іншого, залежно від типу захворювання, концентрації сполуки у терапевтичному складі та стану пацієнта. Зазвичай кількість інгібітора PDE2, що підлягає введенню як терапевтичний засіб для лікування захворювань, за яких інгібування ферменту PDE2 є доцільним, таких як розлади, описані у даному документі, буде визначатися у кожному конкретному випадку лікарем.

60 Придатною дозою зазвичай є доза, яка дає у результаті концентрацію інгібітора PDE2 у ділянці, що оброблюється, в діапазоні від 0,5 нМ до 200 мкМ та в більш типовому випадку від 5

нМ до 50 мкМ. Для досягнення цих лікувальних концентрацій пацієнту, який потребує лікування, ймовірно будуть вводити від 0,001 мг/кг до 15 мг/кг ваги тіла, зокрема від 0,01 мг/кг до 2,50 мг/кг ваги тіла, зокрема від 0,01 до 1,5 мг/кг ваги тіла, зокрема від 0,1 мг/кг до 0,50 мг/кг ваги тіла. Кількість сполуки згідно з даним винаходом, яка також називається у даному документі

5 активним інгредієнтом, необхідна для досягнення терапевтичного ефекту, буде, звісно, змінюватися у кожному конкретному випадку, змінюватися залежно від конкретної сполуки, шляху введення, віку та стану пацієнта, який одержує лікування, та конкретного розладу або захворювання, що підлягає лікуванню. Спосіб лікування може також передбачати введення

10 активного інгредієнта згідно зі схемою від одного до чотирьох уведень на добу. У таких способах лікування сполуку згідно з даним винаходом переважно складають перед введенням. Як описано в даному документі нижче, придатні фармацевтичні складки одержують за допомогою відомих процедур із застосуванням добре відомих і загальнодоступних інгредієнтів.

ФАРМАЦЕВТИЧНІ КОМПОЗИЦІЇ

У даному винаході також передбачені композиції для попередження або лікування

15 захворювань, за яких інгібування PDE2 є доцільним, таких як неврологічні та психічні розлади. Указані композиції містять терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I) та фармацевтично прийнятні носії або розріджувач.

Хоча активний інгредієнт можна вводити окремо, переважно, щоб він був представлений у вигляді фармацевтичної композиції. Відповідно, в даному винаході додатково передбачена

20 фармацевтична композиція, яка містить сполуку згідно з даним винаходом разом із фармацевтично прийнятними носієм або розріджувачем. Носій або розріджувач повинні бути "прийнятними" з погляду на сумісність із іншими інгредієнтами композиції і не повинні бути шкідливими для пацієнтів, які його одержують.

Фармацевтичні композиції за даним винаходом можуть бути одержані будь-якими

25 способами, добре відомими в галузі фармацевтики. Терапевтично ефективна кількість конкретної сполуки, у формі основи або у формі солі приєднання, як активний інгредієнт об'єднують в однорідну суміш із фармацевтично прийнятним носієм, який може набувати ряд форм залежно від форми препарату, необхідної для введення. Бажано, щоб ці фармацевтичні композиції знаходилися в стандартній лікарській формі, переважно придатній для системного

30 введення, такого як пероральне, підшкірне або парентеральне введення; або для місцевого введення, як, наприклад, за допомогою інгаляції, назального спрею, крапель для очей або за допомогою крему, гелю, шампуню тощо. Наприклад, під час одержання композицій у вигляді лікарської форми для перорального введення можна використовувати будь-які звичайні фармацевтичні середовища, такі як, наприклад, вода, гліколі, масла, спирти тощо, у випадку

35 рідких препаратів для перорального введення, таких як суспензії, сиропи, настойки та розчини; або тверді носії, такі як крохмалі, цукри, каолін, змащувальні речовини, зв'язувальні речовини, розпушувачі тощо, у випадку порошків, пілюль, капсул і таблеток. Завдяки своїй простоті введення таблетки та капсули являють собою найбільш переважні стандартні лікарські форми для перорального введення, у випадку яких, безумовно, використовують тверді фармацевтичні

40 носії. У випадку композицій для парентерального введення носій, як правило, щонайменше значною мірою буде містити стерильну воду, хоча може містити й інші інгредієнти, наприклад, для поліпшення розчинності. Наприклад, можна одержувати розчини для ін'єкцій, в яких носій містить фізіологічний розчин, розчин глюкози або суміш фізіологічного розчину та розчину глюкози. Також можна одержувати суспензії для ін'єкцій, у випадку яких можуть застосовуватися відповідні рідкі носії, суспендувальні засоби тощо. У композиціях, придатних

45 для підшкірного введення, носій необов'язково містить засіб, який поліпшує проникнення, та/або придатний змочувальний засіб, необов'язково в комбінації з придатними добавками будь-якої природи в мінімальних пропорціях, при цьому добавки не чинять жодних суттєвих шкідливих впливів на шкіру. Указані добавки можуть полегшувати введення через шкіру та/або можуть

50 бути корисними під час одержання необхідних композицій. Ці композиції можна вводити різними шляхами, наприклад, за допомогою трансдермального пластиру, шляхом точкового нанесення або у вигляді мазі.

Особливо переважно для простоти введення та однорідності дозування складати вищезгадані фармацевтичні композиції у вигляді стандартної лікарської форми. Стандартні

55 лікарські форми в контексті даного опису та формули винаходу стосуються фізично дискретних одиниць, придатних як одиниці дозування, при цьому кожна одиниця містить попередньо визначену кількість активного інгредієнта, розраховану для одержання необхідного терапевтичного ефекту, в поєднанні з необхідним фармацевтичним носієм. Прикладами таких стандартних лікарських форм є таблетки (у тому числі подільні таблетки або таблетки, вкриті оболонкою), капсули, пілюлі, пакети з порошкоподібним продуктом, пластинки, розчини або

60

суспензії для ін'єкцій, чайні ложки з горою, столові ложки з горою тощо, а також їхні окремі кратні кількості.

Залежно від способу введення фармацевтична композиція буде містити від 0,05% до 99% за вагою, переважно від 0,1% до 70% за вагою, більш переважно від 0,1% до 50% за вагою активного інгредієнта та від 1% до 99,95% за вагою, переважно від 30% до 99,9% за вагою, більш переважно від 50% до 99,9% за вагою фармацевтично прийняттого носія, при цьому всі значення відсоткового вмісту наводяться із розрахунку на загальну вагу композиції.

Сполуку за даним винаходом можна застосовувати для системного введення, такого як пероральне, підшкірне або парентеральне введення; або для місцевого введення, як, наприклад, за допомогою інгаляції, назального спрею, крапель для очей або за допомогою крему, гелю, шампуню тощо. Сполуку переважно вводять перорально.

Точне дозування та частота введення залежать від сполуки, конкретного стану, що підлягає лікуванню, тяжкості стану, що підлягає лікуванню, віку, ваги, статі, ступеня вираження розладу та загального фізичного стану конкретного пацієнта, а також від іншого медикаментозного лікування, яке індивідуум може одержувати, що добре відомо фахівцям у даній галузі. Окрім того, очевидно, що вказана ефективна добова кількість може бути знижена або збільшена залежно від реакції суб'єкта, що підлягає лікуванню, та/або залежно від оцінки лікаря, що призначає сполуку за даним винаходом.

Кількість сполуки формули (I), яку можна об'єднувати з матеріалом носія для одержання лікарської форми з одноразовим дозуванням, буде змінюватися залежно від захворювання, лікування якого здійснюють, виду ссавця та конкретного способу введення. Однак як загальна вказівка придатні стандартні дози сполуки за даним винаходом можуть, наприклад, переважно містити від 0,1 мг до приблизно 1000 мг активної сполуки. Переважна стандартна доза становить від 1 мг до приблизно 500 мг. Більш переважна стандартна доза становить від 1 мг до приблизно 300 мг. Ще більш переважна стандартна доза становить від 1 мг до приблизно 100 мг. Такі стандартні дози можна вводити більше одного разу на добу, наприклад, 2, 3, 4, 5 або 6 разів на добу, але переважно 1 або 2 рази на добу з тим, щоб загальне дозування для дорослої людини вагою 70 кг перебувало в діапазоні від 0,001 до приблизно 15 мг на кг ваги суб'єкта із розрахунку на одне введення. Переважне дозування становить від 0,01 до приблизно 1,5 мг на кг ваги суб'єкта із розрахунку на одне введення, і така терапія може продовжуватися протягом декількох тижнів або місяців, а в деяких випадках протягом декількох років. Однак слід розуміти, що певний рівень дози для будь-якого конкретного пацієнта буде залежати від ряду факторів, у тому числі від активності певної використовуваної сполуки; віку, ваги тіла, загального стану здоров'я, статі та режиму харчування індивідуума, що підлягає лікуванню; часу та шляху введення; швидкості виведення; інших лікарських засобів, які були введені раніше; та тяжкості конкретного захворювання, яке піддається терапії, що добре зрозуміло фахівцям у даній галузі.

Типовим дозуванням може бути одна таблетка, яка містить від 1 мг до приблизно 100 мг або від 1 мг до приблизно 300 мг, яку вживають один раз на добу або декілька разів на добу, або одна капсула або таблетка з повільним вивільненням, яку вживають один раз на добу та яка характеризується пропорційно вищим вмістом активного інгредієнта. Ефекту сповільненого вивільнення можна досягти за допомогою матеріалів капсули, які розчиняються за різних значень рН, за допомогою капсул із повільним вивільненням за осмотичного тиску або за допомогою будь-яких інших відомих засобів, що забезпечують контрольоване вивільнення.

У деяких випадках може знадобитися застосування дозувань поза цими діапазонами, що буде очевидно фахівцям у даній галузі. Окрім того, слід відзначити, що клініцист або особистий лікар будуть знати, як і коли починати, переривати, коригувати або закінчувати терапію відповідно до реакції окремого пацієнта.

Щодо композицій, способів і наборів, наведених вище, фахівцю в даній галузі буде зрозуміло, що переважною сполукою для застосування в кожному із них є сполука, вказана в даному документі.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Використовуваний у даному документі термін "ACN" означає ацетонітрил, "AcOH" або "TFA" означає оцтову кислоту, "Boc" означає трет-бутоксикарбоніл, "Boc₂O" означає ди-трет-бутилдикарбонат, "д." означає день(дні), "DMAP" 4-диметиламінопіридин, "DSC" означає диференційну сканувальну калориметрію, "LCMS" означає рідинну хроматографію/мас-спектрометрію, "HPLC" означає високоефективну рідинну хроматографію, "RP HPLC" означає високоефективну рідинну хроматографію з оберненою фазою, "водн." означає водний, "DCM" означає дихлорметан, "DIPE" означає діізопропіловий етер, "DIPEA" означає діізопропілетиламін, "DMF" означає N,N-диметилформамід, "DMSO" означає

диметилсульфоксид, "EDCI" означає 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід, "EtOH" означає етанол, "Et₂O" означає діетиловий етер, "EtOAc" означає етилацетат, "Et₃N" або "TEA" означає триетиламін, "HATU" означає гексафторфосфат 1-[біс(диметиламіно)метилєн]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]піридиній-3-оксид, "HBTU" означає гексафторфосфат O-(бензотриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуронію, "LiHMDS" означає біс(триметилсиліл)амід літію, "THF" означає тетрагідрофуран, "хв." означає хвилини, "год." означає години, "mCPBA" означає 3-хлорпербензойну кислоту, "MeOH" означає метанол, "MTBE" означає метил-трет-бутиловий етер, "Pd/C" означає паладій на вугіллі, "Pd(PPh₃)₄" означає тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0), "iPrOH" означає 2-пропанол, "RM" або "реак. сум." означає реакційну суміш, "К. Т." або "к. т." означає кімнатну температуру, "OL" означає органічний шар, "R_t" означає час утримування (у хвилинах), "кільк." означає кількісний, "насич." означає насичений, "SFC" означає надкритичну рідинну хроматографію, "розч." означає розчин, "т. пл." означає точку плавлення, "q.s." означає достатню кількість.

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

Якщо стереоцентр позначений 'RS', це означає, що одержали рацемічну суміш щодо вказаного центру, якщо не вказане інше. Стереохімічну конфігурацію центрів у деяких сполуках можна позначати як "R" або "S", якщо суміш(суміші) розділяли; для деяких сполук стереохімічну конфігурацію у вказаних центрах позначали як "*"R" або "*"S", якщо абсолютна стереохімічна конфігурація не визначена, хоча сама сполука була виділена у вигляді окремого стереоізомеру та є енантімерно/діастереомерно чистою.

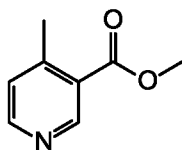
Абсолютну стереохімічну конфігурацію для деяких сполук визначали за допомогою коливального кругового дихроїзму (VCD). Їх вимірювали на Bruker Equinox 55, обладнаному РМА 37, в рідинній кюветі з вікном із КВг із використанням CD₂Cl₂ як розчинника (РЕМ: 1350 см⁻¹, LIA: 1 мВ, роздільна здатність: 4 см⁻¹). Опис застосування VCD для визначення абсолютної конфігурації можна знайти в Dyatkin A.B. et. al, Chirality, 14:215-219 (2002). Розрахунки ab initio: ретельний пошук щодо конформації виконували на рівні молекулярної механіки із застосуванням MacroModel для здійснення відбору зразків за змішаного торсійного/низькочастотного режиму з силовим полем OPLS-2005. Локалізовані мінімуми оптимізували із застосуванням Jaguar на рівні B3LYP/6-31G** у межах континуальної моделі сольватації Пуассона-Больцмана для імітації розчинника дихлорметану. Усі конформації всередині інтервалу 10 кДж/моль застосовували для моделювання спектра VCD та IR-спектра. Дипольні сили та сили обертання розраховували за того ж рівня B3LYP/6-31G** із застосуванням Jaguar. Розраховані спектри VCD, одержані після масштабування частот у 0,97 разів, із перетворенням Лоренца на форму смуг та підсумовуванням внеску кожного конформера, враховуючи ансамбль Больцмана, візуально порівнювали з експериментальними спектрами для визначення точної стереохімії.

Як буде зрозуміло фахівцю у даній галузі, сполуки, синтезовані з використанням вказаних протоколів, можуть існувати у вигляді сольвату, наприклад гідрату, та/або містити залишковий розчинник або незначні домішки. Сполуки, виділені в сольовій формі, можуть характеризуватись цілочисельним стехіометричним індексом, тобто моно- або дисолі, або проміжним стехіометричним індексом.

Наступні приклади призначені для ілюстрації, а не для обмеження обсягу даного винаходу. Якщо не вказано інше, усі вихідні речовини одержували від комерційних постачальників і застосовували без додаткового очищення.

А. Синтез проміжних сполук

Проміжна сполука 1

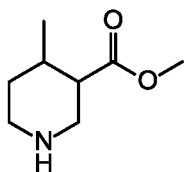


Процедура а. Гідрохлорид 4-метил-3-піридинкарбонової кислоти (1:1) (40 г, 230,4 ммоль) додавали до суміші сірчаної кислоти (20 мл) і MeOH (400 мл), яку нагрівали зі зворотним холодильником. Суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ночі, потім її випарювали та одержану завись додавали до холодного розчину NaHCO₃ (64 г) у воді (360 мл).

5 Продукт екстрагували за допомогою DCM і OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 1 (28,70 г, 83%).

Процедура б. У металевий реактор завантажували 3-бром-4-метилпіридин (200 г, 0,116 моль) та суміш DMF/MeOH (1 л/1 л). До одержаного додавали Et₃N (400 г, 0,395 моль), ацетат паладію(II) (8 г, 0,036 моль) та 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен (16 г, 0,029 моль). Реактор закривали та подавали газ CO (3 МПа) і реакційну суміш перемішували та нагрівали протягом ночі за 140 °С. Реак. сум. охолоджували, фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі (градієнт елюента: EtOAc/петролейний етер від 1/1 до 1/0). Фракції з продуктом збирали та розчинник випарювали з одержанням необхідної проміжної сполуки 1 (90 г, 51%).

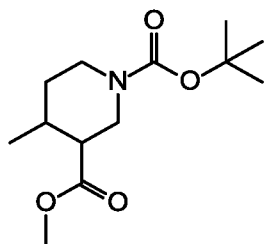
15 Проміжна сполука 2



Процедура а. У колбу для гідрогенізації завантажували AcOH (500 мл) і потім додавали PtO₂ (15,02 г, 66,2 ммоль). Додавали проміжну сполуку 1 (50 г, 330,8 ммоль) і суміш гідрогенізували за 50°C протягом 7 днів. Реак. сум. фільтрували через dicalite® та фільтрат випарювали з одержанням проміжної сполуки 2 (52 г), яку застосовували на наступній стадії без додаткового очищення.

Процедура б. До розчину проміжної сполуки 1 (90 г, 0,595 моль) та AcOH (1 л) додавали оксид платини (5 г, 0,022 моль). Реак. сум. перемішували та гідрогенізували протягом 5 днів за 50 °С за тиску 3,5 кПа. Охолоджену реак. сум. концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 2 у вигляді солі оцтової кислоти (140 г, 97%, 90% чистота, визначена за допомогою ¹H-ЯМР).

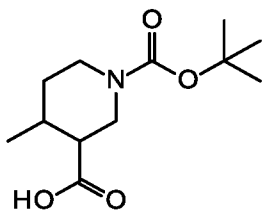
30 Проміжна сполука 3



Процедура а. До розчину проміжної сполуки 2 (52 г, 330,8 ммоль) у DCM (869 мл) додавали DIPEA (85,5 г, 661,5 ммоль) та DMAP (4,04 г, 33,08 ммоль). Потім до цього розчину маленькими порціями додавали ди-трет-бутилдикарбонат (72,19 г, 330,8 ммоль) і реакційну суміш перемішували за к. т. протягом 1 год. Реак. сум. промивали водою та сольовим розчином й органічний шар висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт очищували за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, елюент: DCM, 1% MeOH в DCM, 2%, 4%). Необхідні фракції випарювали з одержанням проміжної сполуки 3 (64,1 г, 75%).

Процедура б. До перемішаного й охолодженого (0 °С) розчину проміжної сполуки 2 (140 г, 0,595 моль) у DCM (1,5 л) послідовно додавали ди-трет-бутилдикарбонат (130 г, 0,596 моль), Et₃N (225 г, 1,74 моль) та DMAP (10 г, 0,082 моль) і перемішування продовжували за к. т. протягом 2 год. Реакційну суміш виливали в H₂O (500 мл) й екстрагували за допомогою DCM (2x100 мл). Органічні шари відділяли, висушували (Na₂SO₄) та розчинник випарювали з одержанням неочищеної проміжної сполуки 3 (150 г, 90%, 90% чистота, визначена за допомогою ¹H-ЯМР), яку застосовували як таку на наступній стадії.

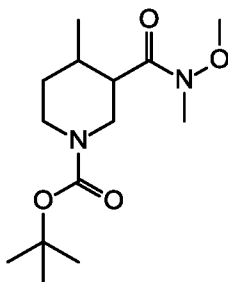
Проміжна сполука 4



Процедура а. Проміжну сполуку 3 (64,1 г, 249,1 ммоль) перемішували в MeOH (500 мл) за к. т. Додавали NaOH (2 М, 747,3 мл) і суміш перемішували протягом 2 год. за к. т. Реак. сум. підкислювали за допомогою 1 н. HCl і продукт екстрагували за допомогою Et₂O. OL промивали сольовим розчином і висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 4 (59,70 г) у вигляді білої твердої речовини.

Процедура б. До перемішаного розчину проміжної сполуки 3 (150 г, 90% чистота, 0,524 моль) у MeOH (0,9 л) додавали 2 М розчин NaOH (1,8 моль). Через 14 год. за к. т. реак. сум. екстрагували за допомогою MTBE (2x0,8 л). Водний шар підкислювали 10% лимонною кислотою та потім екстрагували за допомогою EtOAc (4x1 л). Об'єднані органічні шари висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням неочищеної проміжної сполуки 4 (142 г, 90% чистота, визначена за допомогою ¹H-ЯМР, 100%), яку застосовували як таку на наступній стадії.

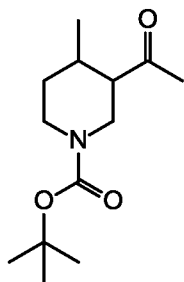
Проміжна сполука 5



Процедура а. До розчину проміжної сполуки 4 (59,7 г, 0,25 моль) у THF (800 мл) додавали ді-1Н-імідазол-1-ілметанон (54 г, 0,33 моль) і суміш перемішували за к. т. протягом 1 год. В іншій колбі до суспензії гідрохлориду N-метоксиметанаміну (1:1) (32,93 г, 0,34 моль) в ACN (500 мл) додавали триметиламін (35,75 г, 0,35 моль). Обидві суміші об'єднували та перемішували за 50°C, здійснюючи при цьому контроль. Проміжний продукт кристалізували із реак. сум. і він не вступав у реакцію з N-метоксиметанаміном для утворення необхідного продукту. Додавали DCM допоки проміжна сполука не розчиниться. Реакційну суміш залишали перемішуватися протягом 1 тижня за 80°C. Розчинники випарювали. Залишок розчиняли в DCM та промивали водою, 20% розчином AcOH і врешті насиченим розчином NaHCO₃. OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт очищували за допомогою колонкової хроматографії (сілікагель, елюент: 2% MeOH в DCM, 4%). Очищені фракції випарювали з одержанням проміжної сполуки 5 (70 г, кількісно).

Процедура б. До перемішаного та охолодженого льодом розчину проміжної сполуки 4 (140 г, 0,518 моль) в DCM (2 л) додавали N,O-диметилгідроксиламін (113 г, 1,16 моль) та Et₃N (113 г, 1,79 моль). Потім додавали HATU (235 г, 0,618 моль) та перемішування продовжували протягом 14 год. Розчинник випарювали та додавали розчин NaHCO₃ (0,5 л) і потім екстрагували за допомогою DCM (3x1 л). Об'єднані органічні шари відділяли, висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою флеш-хроматографії на сілікагелі з елюванням за допомогою 1-10% EtOAc у петролейному етері з одержанням проміжної сполуки 5 (152 г, 100%).

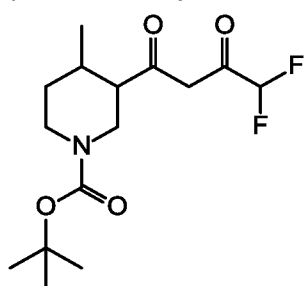
Проміжна сполука 6



Процедура а. Проміжну сполуку 5 (70 г, 244,4 ммоль) у THF (250 мл) завантажували у колбу в атмосфері N_2 й охолоджували до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Метилмагнійбромід (1,4 М у суміші толуол/THF 75/25, 206 мл) додавали по краплях, при цьому температура не перевищувала $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Після додавання реак. сум. перемішували за к. т. протягом 1 год. Потім реак. сум. виливали на лід з 20 мл $AcOH$. Продукт екстрагували за допомогою Et_2O й OL промивали за допомогою 5% розчину $NaHCO_3$. OL висушували над $MgSO_4$, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 6 (53,35 г, 90%).

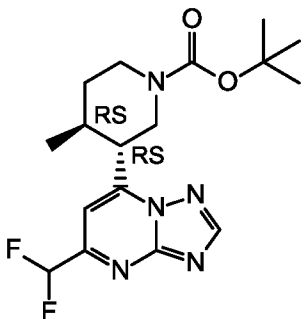
Процедура б. До перемішаного й охолодженого розчину ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) проміжної сполуки 5 (150 г, 0,524 моль) в THF (2 л) по краплях додавали 3 М розчин метилмагнійброміду в THF (0,75 л, 2,25 моль) та перемішування продовжували за к. т. протягом 2 год. Реакційну суміш виливали у водний розчин NH_4Cl й екстрагували за допомогою DCM. Об'єднані органічні шари висушували над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою хроматографії на силікагелі з елюванням за допомогою 1-5% $EtOAc$ у петролейному етері з одержанням проміжної сполуки 6 (120 г, 95%).

Проміжна сполука 7



Проміжну сполуку 6 (53,35 г, 0,22 моль) перемішували в толуолі (1500 мл) за 0°C в атмосфері N_2 . Додавали трет-бутоксид калію (34,14 г) за $0-5^{\circ}\text{C}$ і додавали по краплях етиловий естер 2,2-дифтороцтової кислоти (33,01 г, 0,27 моль) за $0-5^{\circ}\text{C}$. Реак. сум. перемішували за к. т. протягом 2 год, потім промивали за допомогою 10% H_2SO_4 у воді й OL висушували над $MgSO_4$, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 7 (70,50 г, кількісно).

Проміжна сполука 8

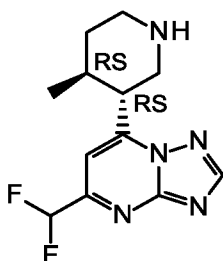


Проміжну сполуку 7 (70,5 г, 220,8 ммоль), гідрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-аміну (1:1) (53,22 г, 441,52 ммоль) і DMF (1500 мл) перемішували за 80°C протягом 24 год. Додавали Et_3N (20 г) і ди-трет-бутилдикарбонат (20 г). Суміш перемішували протягом 30 хв., випарювали, а потім розчиняли в $EtOAc$, промивали водою та сольовим розчином. OL висушували над $MgSO_4$,

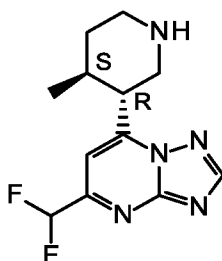
фільтрували та випарювали. Спостерігали чотири ізомери. Першу фракцію кристалізували з Et₂O. Кристали відфільтровували та висушували з одержанням проміжної сполуки 8 (24,60 г, 30%). Із маточного розчину одержували другу фракцію сполуки. Кристали відфільтровували та висушували з одержанням проміжної сполуки 8 (2,53 г, 3%). Примітка: "RS" означає, що проміжна сполука являє собою рацемічну суміш двох енантіомерів із відносною транс-конфігурацією.

5

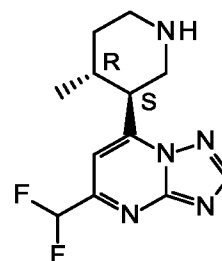
Проміжна сполука 9, 9A ТА 9B



Проміжна сполука 9



Проміжна сполука 9a



Проміжна сполука 9b

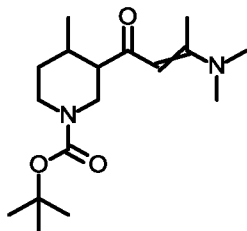
10 До розчину проміжної сполуки 8 (24,6 г, 67 ммоль) у MeOH (350 мл) додавали HCl-iPrOH (350 мл) і реак. сум. перемішували протягом 2 год. за к. т. Реак. сум. випарювали та продукт кристалізували з EtOH. Кристали відфільтровували та висушували з одержанням 20,33 г неочищеної речовини, до якої додавали воду, Na₂CO₃ та DCM. OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням 12,80 г проміжної сполуки 9. Цю вільну основу розділяли на енантіомери 9a та 9b шляхом очищення за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralpak Diacel AD 30 x 250 мм; рухома фаза: CO₂, ((MeOH - iPrOH 50/50) з 0,4% iPrNH₂) з одержанням проміжної сполуки 9a (5 г, 19%, R_t=7,57 хв.) та проміжної сполуки 9b (5,13 г, 19%, R_t=9,36 хв.).

15

Проміжні сполуки 9a та 9b виділяли у вигляді вільних основ, або, альтернативно, їх розчиняли в MeOH із наступним додаванням HCl/i-PrOH і випарюванням суміші. Гідрохлоридні солі (у кожному випадку .HCl) кристалізували з ACN, відфільтровували та висушували.

20

Проміжна сполука 10

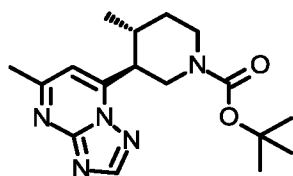


25

Перемішану суміш I-6 (7,3 г, 0,03 моль) у диметилацетаті N,N-диметилацетаміду (20 мл, 0,91 г/мл, 0,14 моль) нагрівали за 100 °C протягом 4 год. Реак. сум. концентрували in vacuo, випарювали спільно з толуолом (2x20 мл) з одержанням I-7 у вигляді коричневого залишку (9,4 г, вихід 100,1%), який застосовували як такий на наступній стадії.

30

Проміжна сполука 11 (I-11)

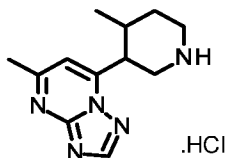


35

До суміші I-10 (9,4 г, 0,03 моль) в AcOH (50 мл, 1,05 г/мл, 1,75 моль) додавали суміш 3-аміно-1,2,4-триазолу (2,68 г, 0,03 моль) у HOAc (50 мл, 1,05 г/мл, 1,75 моль) й одержану в результаті реак. сум. нагрівали на металевому нагрівальному блоці Drysyn® за 130 °C протягом 15 хв. Реак. сум. охолоджували, концентрували in vacuo, розбавляли за допомогою DCM (0,2 л) й обробляли за допомогою 1 NaOH до pH~8. Шари розділяли та водний шар екстрагували за

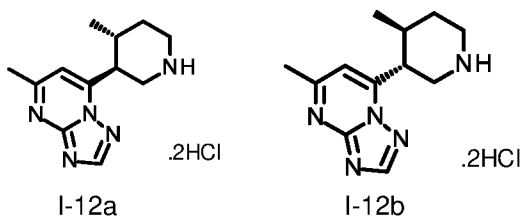
допомогою DCM (2x50 мл). Об'єднані органічні шари висушували (MgSO_4), фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням темно-коричневого масла, яке очищували за допомогою хроматографії на силікагелі із застосуванням колонки для флеш-хроматографії Redisep® 120 г з елююванням градієнтом 0-3% 7 н. NH_3/MeOH у DCM з одержанням проміжної сполуки 11 у вигляді жовтувато-коричневого масла, у вигляді суміші цис:транс-ізомерів $\sim 1:4$ (2,15 г, вихід 21,42%).

Проміжна сполука 12



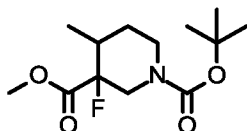
Перемішану суміш I-11 (2,15 г, 0,0065 моль) у MeOH (50 мл, 0,79 г/мл, 1,23 моль) обробляли за допомогою HCl (6 М в iPrOH) (50 мл, 6 М, 0,3 моль) і через 16 год. за к. т. реак. сум. концентрували in vacuo з одержанням брудно-білої твердої речовини. Одержане розтирали з сумішшю Et_2O (200 мл) і ACN (30 мл) протягом 16 год. Тверду речовину збирали за допомогою фільтрації та висушували з одержанням проміжної сполуки 12 у вигляді брудно-білої твердої речовини, у вигляді суміші цис/транс-ізомерів (18%/82%) (1,7 г, вихід 97,87%).

Проміжна сполука 12A і Проміжна сполука 12B



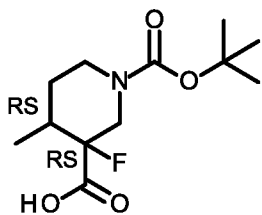
Перемішану суміш I-11 (23 г, 0,0694 моль) у MeOH (165 мл) обробляли за допомогою HCl (6 М в iPrOH) (165 мл, 6 М, 0,986 моль) і через 16 год. за к. т. реак. сум. концентрували in vacuo з одержанням брудно-білої твердої речовини. Одержане розбавляли водою та DCM та обробляли за допомогою Na_2CO_3 . OL висушували над MgSO_4 , фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням залишку, який очищували із застосуванням SCF (нерухома фаза: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 мм, рухома фаза: CO_2 , MeOH-iPrOH (50-50) + 0,4% iPrNH₂) з одержанням проміжних сполук 12a і 12b та. Одержане розчиняли в MeOH (100 мл) й обробляли за допомогою HCl (6 М в iPrOH) (100 мл) за 0 °C протягом 2 год. Леткі речовини випарювали за зниженого тиску й одержані залишки перемішували за 0 °C в Et_2O з одержанням проміжної сполуки 12a (9,25 г, 43%, $R_t=3,54$ хв., $[\alpha]^{20}_D=-17,47^\circ$ (с 0,54, DMF)) та проміжної сполуки 12b (8,8 г, 42%, $R_t=3,24$ хв., $[\alpha]^{20}_D=+16,5^\circ$ (с 0,52, DMF)).

Проміжна сполука 13



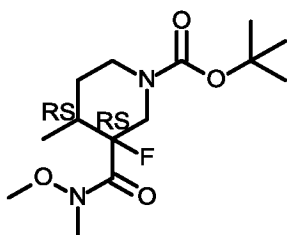
До розчину LDA (2 М в суміші THF/гептан/етилбензол, 42,7 мл, 2 М, 85,493 ммоль) в 100 мл THF (245 мл) додавали по краплях розчин проміжної сполуки 3 (20 г, 77,721 ммоль) в THF (50 мл) за 0°C. Розчин перемішували протягом 30 хв., а потім переносили в розчин N-фторбензолсульфоніміду (30,6 г, 97,1 ммоль) в 100 мл THF за 0°C. Реак. сум. перемішували протягом 15 хв. за 0°C, а потім за к. т. протягом ночі. Реак. сум. випарювали, додавали EtOAc і реак. сум. послідовно промивали водою, 0,1 н. розчином HCl, насиченим розчином NaHCO_3 і сольовим розчином. OL висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент: DCM->1% MeOH в DCM. Очищені фракції випарювали з одержанням проміжної сполуки 13 (21,4 г, кількісно).

Проміжна сполука 14



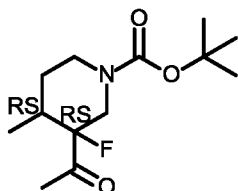
Розчин проміжної сполуки 13 (21,4 г, 77,728 ммоль) перемішували в MeOH (500 мл) за к. т. Додавали NaOH (486 мл, 2 М, 973 ммоль) і суміш перемішували протягом 2 год. за к. т. Реак. сум. підкислювали за допомогою 1 н. HCl і продукт екстрагували за допомогою Et₂O. OL промивали сольовим розчином і висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент: DCM->5% MeOH в DCM. Очищені фракції випарювали з одержанням 14 (15 г, 74%).

Проміжна сполука 15



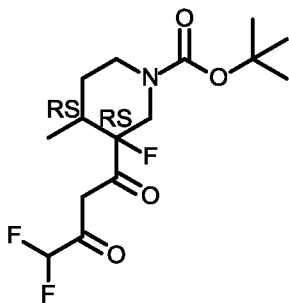
Проміжну сполуку 14 (15 г, 57,407 ммоль) розчиняли в DCM (1000 мл). Потім додавали гідрохлорид N,O-диметилгідроксиламіну (11,2 г, 114,8 ммоль) та Et₃N (17,4 г, 172 ммоль). Реакційну суміш охолоджували до 0 °С. Потім додавали HATU (24,0 г, 63,1 ммоль). Реакційну суміш перемішували за к. т. протягом 2 год. Реак. сум. виливали у водн. розчин NaHCO₃ (100 мл). OL відділяли, висушували за допомогою MgSO₄ і розчинник випарювали. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елюент: DCM->1% MeOH в DCM. Фракції з продуктом збирали та розчинник випарювали з одержанням необхідного продукту 15 (8,49 г, 49%).

Проміжна сполука 16



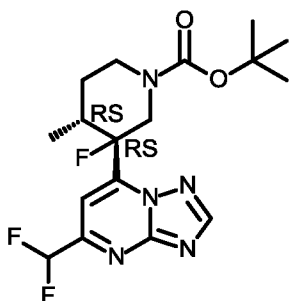
Проміжну сполуку 15 (8,49, 27,9 ммоль) в THF (60 мл) поміщали у колбу в атмосфері N₂ й охолоджували до -15 °С. Додавали по краплях метилмагнійбромід (16,3 мл, 3 М, 48,8 ммоль), при цьому температура не перевищувала 0 °С. Після додавання реак. сум. перемішували протягом 1 год. за к. т. Потім реак. сум. виливали на лід з 20 мл AcOH. Продукт екстрагували за допомогою Et₂O й OL промивали за допомогою 5% розчину NaHCO₃. OL висушували над MgSO₄, фільтрували, і випарювали, і очищували на силікагелі, елюент: DCM. Очищені фракції випарювали з одержанням проміжної сполуки 16 (3,20 г, 44%).

Проміжна сполука 17



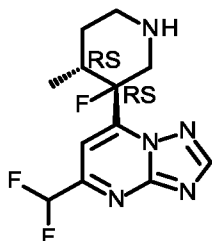
Проміжну сполуку 16 (3,2 г, 0,0123 моль) перемішували у толуолі (150 мл) за 0°C в атмосфері N₂. Додавали трет-бутоксид калію (1,94 г, 17,3 ммоль) за 0-5°C, додавали по краплях етилдифторацетат (1,84 г, 0,0149 моль) за 0-5°C. Реак. сум. перемішували за к. т. протягом 2 год. Реак. сум. промивали за допомогою 10% H₂SO₄ у воді й OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 17 (4,16 г, 99%).

Проміжна сполука 18



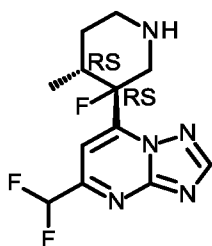
Проміжну сполуку 17 (4,16 г, 12,3 ммоль) і гідрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-аміну (2,97 г, 24,7 ммоль) в DMF (40 мл) перемішували за 80°C протягом 16 год. Реак. сум. випарювали, додавали DCM та додавали 2 г (Boc)₂O і 2 мл Et₃N. Суміш перемішували протягом 30 хв., промивали водою, OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт (4 ізомери) очищували на силікагелі, елюент: DCM->2% MeOH в DCM. Фракції випарювали з одержанням 3,55 г неочищеної речовини, яку очищували за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, 5 см, рухома фаза: 0,25% розчин NH₄HCO₃ у воді, CH₃CN) з одержанням проміжної сполуки 18 (730 мг, 15%).

Проміжна сполука 19

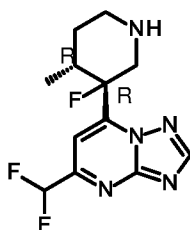


До проміжної сполуки 18 (0,73 г, 1,894 ммоль) у MeOH (20 мл) додавали HCl (6 М в iPrOH) (20 мл, 6 М, 120 ммоль) й одержане перемішували за к. т. протягом ночі. Розчинники випарювали з одержанням проміжної сполуки 19 (600 мг, 99%).

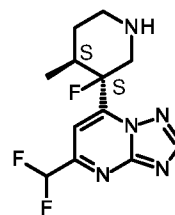
Альтернативна процедура одержання проміжної сполуки 19 та розділення на проміжні сполуки 19a і 19b



Проміжна сполука 19



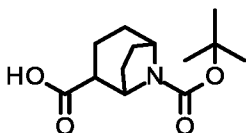
Проміжна сполука 19A



Проміжна сполука 19B

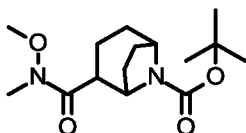
До проміжної сполуки 18 (4,5 г, 11,7 ммоль) в DCM (52 мл) додавали трифтороцтову кислоту (TFA) (6 М в iPrOH) (5,4 мл, 6 М, 70 ммоль) й одержане перемішували за к. т. протягом 1 год. Розчинники випарювали та одержаний залишок розчиняли в DCM та промивали насиченим водним розчином NaHCO₃. OL відділяли та водний шар повторно екстрагували за допомогою 2 х DCM. Об'єднані OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/NH₃(MeOH), від 99/1 до 93/7, з одержанням проміжної сполуки 19 (2,2 г, вихід 66%) у вигляді рацемічної суміші. Одержане розділяли на енантіомери за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralpak Diacel AD 20 x 250 мм, рухома фаза: CO₂, EtOH+0,4% iPrNH₂) з одержанням проміжних сполук 19a (955 мг, 29%, Rt=2,36 хв.) і 19b (970 мг, 29%, Rt=2,99 хв.).

Проміжна сполука 20



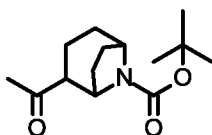
8-(1,1-Диметилетил)-2-метиловий естер 8-азабіцикло[3.2.1]октан-2,8-дикарбонової кислоти [1033820-28-8] (4,77 г, 17,71 ммоль) перемішували в MeOH (41,608 мл) за к. т. Додавали NaOH (106 мл, 1 М, 106 ммоль) і суміш перемішували протягом ночі за к. т. MeOH випарювали. Реак. сум. підкислювали за допомогою 1 н. HCl і продукт екстрагували хлороформом. OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 20 (4,52 г, 100%).

Проміжна сполука 21



Проміжну сполуку 20 (4,52 г, 17,704 ммоль) розчиняли в DCM (200 мл). Потім додавали гідрохлорид N,O-диметилгідроксиламіну (3,454 г, 35,407 ммоль) і Et₃N (5,37 г, 53,1 ммоль). Реакційну суміш охолоджували до 0 °С. Потім додавали HATU (7,41 г, 19,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували за к. т. протягом 2 год. Реакційну суміш виливали у водн. розчин NaHCO₃ (100 мл). OL відділяли, висушували за допомогою MgSO₄ і розчинник випарювали. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елюент: DCM->1% MeOH в DCM. Фракції з продуктом збирали та розчинник випарювали з одержанням проміжної сполуки 21 (3,03 г, 57%).

Проміжна сполука 22

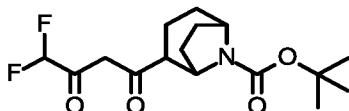


Проміжну сполуку 21 (3,03 г, 10,2 ммоль) в THF (50 мл) поміщали у колбу в атмосфері N₂ та охолоджували до -15 °С. Додавали по краплях метилмагнійбромід (12,7 мл, 1,4 М, 17,8 ммоль),

при цьому температура не перевищувала 0 °С. Після додавання реак. сум. перемішували протягом 1 год. за к. т. Потім реак. сум. виливали на лід з АсОН (20 мл). Продукт екстрагували за допомогою Et₂O й OL промивали за допомогою 5% розчину NaHCO₃. OL висушували над MgSO₄, фільтрували, і випарювали, і очищували на силікагелі, елюент: DCM. Очищені фракції

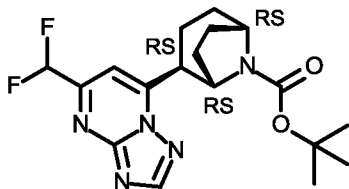
5 випарювали з одержанням проміжної сполуки 22 (2,57 г, 100%).

Проміжна сполука 23



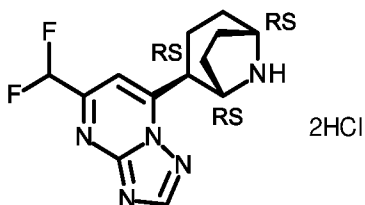
10 Проміжну сполуку 22 (2,57 г, 0,0101 моль) перемішували у толуолі (150 мл) за 0°C в атмосфері N₂. Додавали трет-бутоксид калію (1,59 г, 14,2 ммоль) за 0-5°C, додавали по краплях етилдифторацетат (1,52 г, 0,0122 моль) за 0-5°C. Реак. сум. перемішували за к. т. протягом 2 год. Реак. сум. промивали за допомогою 10% H₂SO₄ у воді й OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 23 (3,34 г, 99%).

15 Проміжна сполука 24



20 Проміжну сполуку 23 (3,34 г, 10,1 ммоль) і гідрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-аміну (2,43 г, 20,2 ммоль) у DMF (30 мл) перемішували за 80°C протягом 16 год. Реак. сум. випарювали, додавали DCM та додавали 2 г (Boc)₂O і Et₃N (2 мл). Суміш перемішували протягом 30 хв., промивали водою, OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт (4 ізомери) очищували на силікагелі, елюент: DCM->2% MeOH в DCM. Фракції випарювали з одержанням 3,07 г неочищеної речовини, яку очищували за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, рухома фаза: 0,25% розчин NH₄HCO₃ у воді, MeOH) з одержанням проміжної сполуки 24 (1,07 г, 28%).

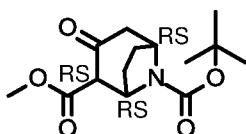
Проміжна сполука 25



30 До проміжної сполуки 24 (1,07 г, 2,82 ммоль) в MeOH (30 мл) додавали HCl (6 М в 30 мл iPrOH, 6 М, 179 ммоль) і реакційну суміш перемішували за к. т. протягом ночі. Розчинники випарювали та продукт кристалізували з етеру. Кристали відфільтровували та висушували з одержанням проміжної сполуки 25 у вигляді солі хлористоводневої кислоти (1,12 г, 112%).

35 Альтернативна процедура одержання проміжної сполуки 25

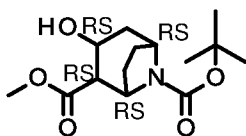
Стадія 1. Проміжна сполука 43



40 Додавали н-бутиллітій (nBuLi, 106,5 мл, 266,3 ммоль, 2,5 М у гексанах) за 0°C до розчину діізопропіламіну (26,95 г, 266,3 ммоль) у THF (500 мл). Реакційну суміш перемішували за 0°C

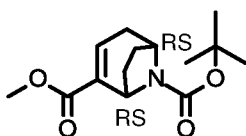
протягом 30 хв., потім її охолоджували до -78°C й обробляли розчином N-Вос-нортропінону (50 г, 221,9 ммоль) в THF (75 мл). Одержану суміш перемішували за -78°C протягом 90 хв., потім додавали метилціаноформіат (22,9 мл, 288,5 ммоль). Забезпечували нагрівання реак. сум. до к. т. та перемішували її протягом ночі. Реакційну суміш гасили насиченим водним розчином NH_4Cl , потім її розбавляли за допомогою EtOAc. Органічний шар відділяли, потім промивали водою та сольовим розчином, висушували над MgSO_4 , фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта: від 100% DCM до 1% MeOH у DCM з одержанням проміжної сполуки 43 (60,25 г, 95,8%).

Стадія 2. Проміжна сполука 44



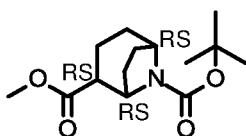
Додавали борогідрид натрію (16,02 г, 423,5 ммоль) до холодного (льодяна баня) розчину проміжної сполуки 43 (60 г, 211,8 ммоль) у метанолі (700 мл) та забезпечували перемішування реакційної суміші протягом 5 год. Завершену реакцію гасили насиченим водним розчином NH_4Cl , потім розчинник випарювали до сухого стану за зниженого тиску. Одержаний залишок розчиняли у воді та екстрагували за допомогою 3хDCM. Об'єднані органічні шари висушували над MgSO_4 , фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням проміжної сполуки 44 (59 г, 97,6%), яку застосовували як таку без додаткового очищення.

Стадія 3. Проміжна сполука 45



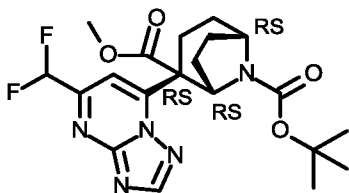
По краплях дуже повільно додавали трифтороцтовий ангідрид (57,5 мл, 413,5 ммоль) (УВАГА! екзотермічна реакція) до розчину проміжної сполуки 44 (59 г, 206,8 ммоль), триетиламіну (115 мл, 827,1 ммоль) і 4-(диметиламіно)піридину (2,52 г, 20,7 ммоль) у DCM (800 мл), при цьому підтримуючи температуру нижче 60°C . Реакційну суміш перемішували за к. т. протягом ночі, потім її охолоджували на льодяній бані та гасили водою. pH одержаного розчину регулювали до 8-8,5 із застосуванням насиченого водного розчину NaHCO_3 і забезпечували його перемішування за к. т. протягом 1 години. Потім водний шар екстрагували 3 x DCM, потім об'єднані органічні шари висушували над MgSO_4 , фільтрували та концентрували in vacuo. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта від 100% DCM до 2% MeOH у DCM з одержанням проміжної сполуки 45 (33,7 г, 61%).

Стадія 4. Проміжна сполука 46



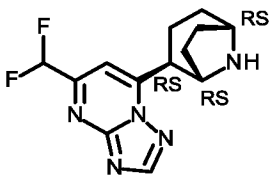
У колбу, що містить проміжну сполуку 45 (2,44 г, 9,13 ммоль) і Pd/C (10%) (0,971 г, 0,913 ммоль), додавали MeOH (59 мл) в атмосфері азоту. В одержаному створювали вакуум і заповнювали газоподібним воднем та перемішували його за к. т. протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували через подушку із Celite®, потім розчинник видаляли in vacuo. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта від 100% DCM до 2% MeOH у DCM з одержанням проміжної сполуки 46 (2 г, 81%).

Стадія 5. Проміжна сполука 47

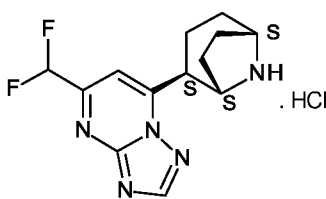


LDA (54,3 мл, 108,7 ммоль, 2 М у суміші циклогексан/етилбензол/THF) додавали по краплях за температури від -78 °С до -60 °С до розчину проміжної сполуки 46 (24,4 г, 90,6 ммоль) у безводному THF (363 мл) в атмосфері азоту. Після додавання реакційну суміш нагрівали до -30°C і перемішували протягом 10 хв. перед охолодженням знову до -78°C. 7-Хлор-5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піримідин ([1340394-63-9], 18,5 г, 90,6 ммоль) розчиняли в мінімальній кількості THF і додавали по краплях за допомогою шприца. Реакційну суміш перемішували за -60 °С протягом 1 год., потім температуру підвищували до к. т. і реакцію гасили насиченим водним розчином NH₄Cl. Леткі речовини випарювали in vacuo й одержаний залишок розділяли між EtOAc і водою. Шари розділяли, потім водний шар екстрагували за допомогою 2 x EtOAc. Об'єднані OL промивали сольовим розчином, висушували над MgSO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Одержаний залишок кристалізували з діетилового етеру із одержанням проміжної сполуки 47 (23,8 г, 60%). Фільтрат випарювали та одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта від 100% DCM до 2% MeOH в DCM з одержанням проміжної сполуки 47 (2 г, 5%) після перекристалізації з діетилового етеру.

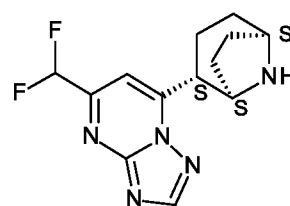
Стадія 6. Проміжна сполука 25, проміжна сполука 25a і проміжна сполука 25b



Проміжна сполука 25



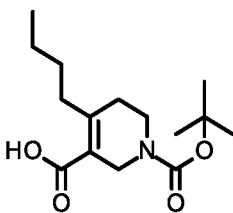
Проміжна сполука 25A



Проміжна сполука 25B

Проміжну сполуку 47 (25,8 г, 58,9 ммоль) перемішували в концентрованому розчині HCl (266 мл, 3,19 моль, 37% в H₂O) за 150°C протягом ночі. Леткі речовини випарювали in vacuo й одержаний залишок двічі випарювали спільно з толуолом. Продукт обробляли насиченим водним розчином NaHCO₃ до основного pH. Водний шар екстрагували за допомогою DCM, потім органічний шар висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта від 100% DCM до 8% MeOH/NH₃ у DCM з одержанням проміжної сполуки 25 у вигляді рацемічної суміш (13 г, 79%). Дану речовину очищували за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralpak Diacel AD 20 x 250 мм, рухома фаза: CO₂, EtOH + 0,4 iPrNH₂). 1S,4S,5S-Енантіомер перетворювали на його сіль HCl і перекристалізовували з CH₃CN з одержанням проміжної сполуки 25a (5,58 г, 30%, Rt=2,91 хв., [α]_D²⁰= -66,6 (c=0,48, DMF)).

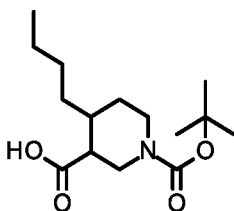
Проміжна сполука 26



Суміш 1-трет-бутил-3-метил 4-(((трифторметил)сульфоніл)окси)-5,6-дигідропіридин-1,3(2H)-дикарбоксилату [161491-25-4] (15 г, 38,53 ммоль, одержаного згідно з Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 12942-12946), N-бутилборонової кислоти [4426-47-5] (5,89 г, 57,8 ммоль), Pd(PPh₃)₄ [14221-01-3] (1,78 г, 1,54 ммоль) і Na₂CO₃ [497-19-8] (8,167 г, 77,052 ммоль) в 1,4-діоксані [123-

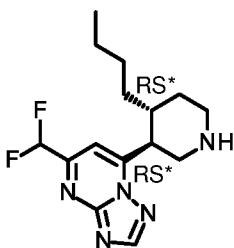
91-1] (300 мл) перемішували та нагрівали за 90°C протягом ночі. Леткі речовини випарювали *in vacuo* й одержаний залишок обробляли 1 н. водним розчином HCl. Водний шар екстрагували за допомогою DCM, потім об'єднані OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали *in vacuo*. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM-MeOH (9:1, об./об.)/DCM, від 0/100 до 30/70). Це забезпечувало одержання 3,65 г 1-трет-бутил-5-метил-4-бутил-3,6-дигідро-2H-піридин-1,5-дикарбоксилату, який розчиняли в суміші метанолу та 1 н. водного розчину NaOH (1:1, об./об., 200 мл) та перемішували протягом ночі за к. т. Леткі речовини випарювали за зниженого тиску й одержаний залишок поміщали на лід та підкислювали 1 н. водним розчином HCl. Водний шар екстрагували хлороформом, потім об'єднані OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта від 1% MeOH в DCM до 2% MeOH в DCM з одержанням проміжної сполуки 26 (1,69 г, вихід 15,5%).

Проміжна сполука 27



Проміжну сполуку 26 (1,47 г, 5,188 ммоль) додавали до суспензії Pd/C (10%) (668 мг, 0,63 ммоль) в MeOH [67-56-1] (134 мл). Потім суміш поміщали в атмосферу H₂ та перемішували протягом 36 год. Після цього каталізатор фільтрували через подушку з Celite і розчинник випарювали за зниженого тиску з одержанням проміжної сполуки 27 (1,45 г, 98%).

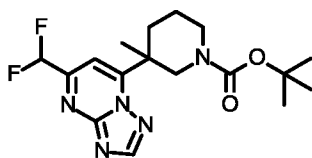
Проміжна сполука 28



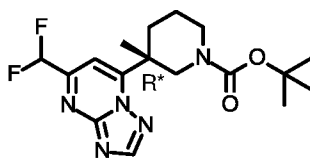
. HCl

Відповідно до процедури, аналогічної процедурі, представлений для синтезу проміжної сполуки 8, синтезували проміжну сполуку 28, починаючи з проміжної сполуки 27 з одержанням проміжної сполуки 28 (200 мг).

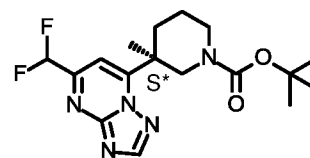
Проміжні сполуки 29, 29A та 29B



Проміжна сполука 29



Проміжна сполука 29A

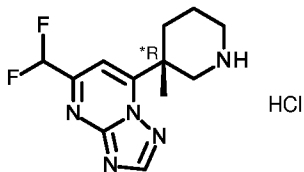


Проміжна сполука 29B

Додавали NaN (60% дисперсія в мінеральному маслі, 1,5 г, 39,05 ммоль) до розчину трет-бутил-3-[5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-a]піримідин-7-іл]піперидин-1-карбоксилату, який одержували аналогічно до проміжної сполуки 8 і 11, починаючи з 3-піридинкарбонової кислоти (11,5 г, 32,54 ммоль) в DMF (500 мл) за к. т. та у потоці N₂. Реакційну суміш перемішували протягом 30 хв. за к. т., потім додавали по краплях метилйодид (5,54 г, 39,05 ммоль) і суміш перемішували протягом ночі за к. т. Додавали воду та продукт екстрагували за допомогою EtOAc. OL промивали сольовим розчином, висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Одержаний залишок очищували за допомогою препаративної HPLC (нерухома

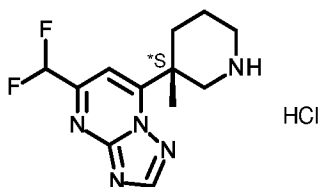
фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, рухома фаза: 0,25% розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH) з одержанням проміжної сполуки 29 (4,32 г, 36%) у вигляді рацемічної суміші. Одержане розділяли на енантіомери за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralcel Diacel OJ 20 x 250 мм, рухома фаза: CO_2 , iPrOH+0,2% iPrNH₂) з одержанням проміжних сполук 29a (2 г, 17%) і 29b (2 г, 17%).

Проміжна сполука 30A



До проміжної сполуки 29a (500 мг, 1,36 ммоль) в MeOH (20 мл) додавали HCl (6 М в 20 мл iPrOH, 6 М, 120 ммоль) і реакційну суміш перемішували за к. т. протягом ночі. Розчинники випарювали з одержанням проміжної сполуки 30a у вигляді солі хлористоводневої кислоти (400 мг, 97%).

Проміжна сполука 30B

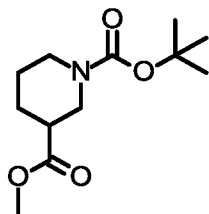


Проміжну сполуку 30b одержували так само, як описано для проміжної сполуки 30a, починаючи з 29b (400 мг, 97%).

АЛЬТЕРНАТИВНА ПРОЦЕДУРА ОДЕРЖАННЯ ПРОМІЖНОЇ СПОЛУКИ 29

Стадія 1

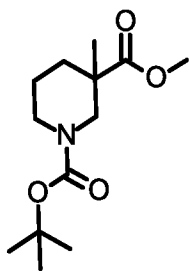
Проміжна сполука 31



Додавали K_2CO_3 (33,15 г, 0,24 моль) до перемішаного розчину 1-(трет-бутоксикарбоніл)піперидин-3-карбонової кислоти [84358-12-3] (50,0 г, 0,22 моль) в DMF (600 мл) за к. т. Через 30 хвилин додавали метилйодид (34,05 г, 0,24 моль) і реакційну суміш перемішували протягом ще 2,5 год. за к. т. Леткі речовини випарювали in vacuo й одержаний залишок поміщали у воду й екстрагували за допомогою DIPE. Об'єднані OL висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали з одержанням 54,75 г проміжної сполуки 31, яку застосовували як таку на наступній стадії.

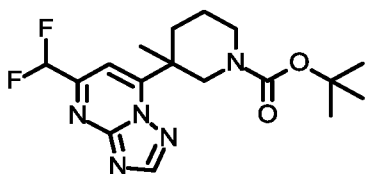
Стадія 2

Проміжна сполука 32



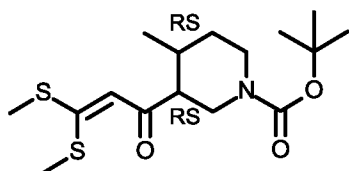
Додавали по краплях LiHMDS (450 мл, 0,45 моль, 1 М) до розчину проміжної сполуки 31 (54,75 г, 0,22 ммоль) в THF (1 л) за -78°C і в атмосфері N₂. Розчин перемішували за -78°C протягом 1 години, а потім додавали по краплях метилйодид (63,9 г, 0,45 ммоль) за даної температури. Після завершення додавання забезпечували нагрівання реакційної суміші до к. т. Потім реак. сум. обробляли насиченим водним розчином NH₄Cl. Водний шар екстрагували за допомогою Et₂O. Об'єднані OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії із застосуванням як елюента 20% розчину EtOAc в гептані з одержанням проміжної сполуки 32 (55,5 г, вихід 96%).

Проміжна сполука 29



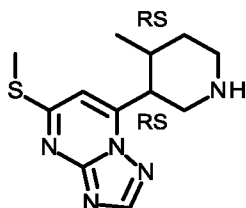
Відповідно до процедури, аналогічної процедурі, представлений для синтезу проміжної сполуки 8, починаючи з проміжної сполуки 32, одержували проміжну сполуку 29 (36,7 г, вихід 43,5%).

Проміжна сполука 33



Додавали NaN (60% дисперсія в мінеральному маслі, 0,97 г, 24,2 ммоль) до проміжної сполуки 6 (5 г, 20,7 ммоль) в безводному THF (35 мл) в 250 мл чотирьохгорлій RBF за 0°C в потоці N₂. Через 10 хвилин додавали по краплях дисульфід вуглецю (1,46 мл, 24,1 ммоль), а потім додавали по краплях метилйодид (2,71 мл, 43,5 ммоль). Суміш перемішували протягом ночі за к. т. Додавали воду та продукт екстрагували за допомогою EtOAc. OL промивали сольовим розчином, висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 33 (8,2 г, 92%), яку застосовували як таку на наступній стадії.

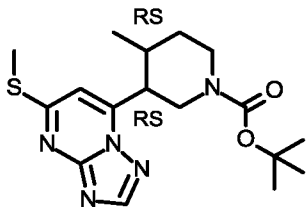
Проміжна сполука 34



Проміжну сполуку 33 (1 г, 2,89 ммоль) і гідрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-аміну (0,35 г, 2,89 ммоль) перемішували за 150°C протягом 3 годин для проходження реакції плавлення. Реак.

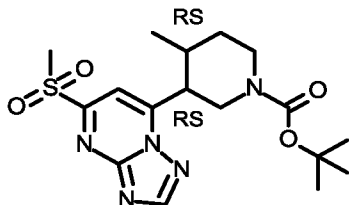
сум. охолоджували до к. т. і розчиняли в DCM. OL промивали насич. водн. розч. NaHCO_3 , водою, сольовим розчином, висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент DCM/MeOH, від 100/0 до 98/2, з одержанням проміжної сполуки 34 (200 мг, 26%).

5 Проміжна сполука 35



10 До проміжної сполуки 34 (200 мг, 0,76 ммоль) в DCM (3,3 мл) додавали $(\text{Boc})_2\text{O}$ (199 мг, 0,91 ммоль), Et_3N (127 мкл, 0,91 ммоль) і реак. сум. перемішували за к. т. протягом ночі. Розчинник випарювали, потім залишок поміщали в DCM і промивали водою (3 х), потім сольовим розчином. OL відділяли, висушували (MgSO_4), фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 35 (199 мг, 72%), яку застосовували без додаткового очищення на наступній стадії.

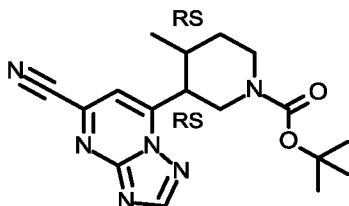
15 Проміжна сполука 36



20 До проміжної сполуки 35 (347 мг, 0,95 ммоль) в CCl_4 (12 мл) додавали mCPBA (659 мг, 3,82 ммоль) і реак. сум. нагрівали зі зворотним холодильником протягом 2 годин. Реак. сум. розбавляли за допомогою CHCl_3 , промивали за допомогою 1 н. NaOH , висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 36 (301 мг, 79%), яку застосовували як таку на наступній стадії.

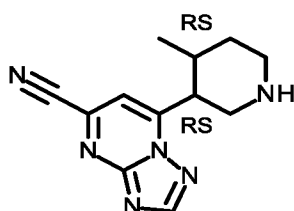
Проміжна сполука 37

25



30 Проміжну сполуку 36 (799 мг, 2,02 ммоль) і ціанід натрію (202 мг, 4,04 ммоль) перемішували в DMSO (5 мл) за к. т. протягом 30 хвилин. Реак. сум. виливали у воду й екстрагували за допомогою EtOAc. OL промивали сольовим розчином, висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 37 (550 мг, 80%), яку застосовували як таку на наступній стадії.

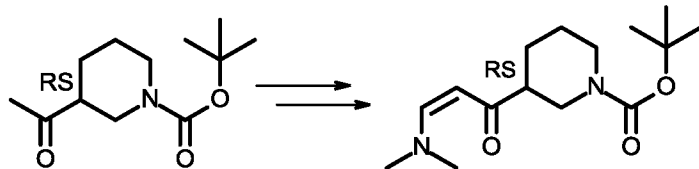
Проміжна сполука 38



35

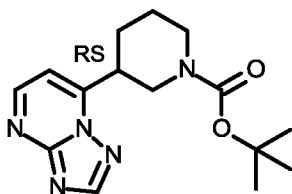
До проміжної сполуки 37 (520 мг, 1,52 ммоль) в DCM (3,0 мл) додавали TFA (6 мл) і реак. сум. перемішували протягом 1 години за 0 °С. Реак. сум. виливали в насичений розчин Na_2CO_3 , потім OL знову промивали насиченим розчином Na_2CO_3 , сольовим розчином, висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 38 (273 мг, 73%).

Проміжна сполука 39



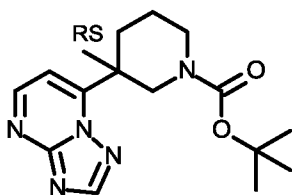
Проміжну сполуку 6' (одержану з проміжної сполуки 31 відповідно до перетворень, аналогічних перетворенням для проміжних сполук 3-6) (50 г, 0,22) додавали до диметилацеталу N,N-диметилформаміду (110 мл) і суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 4 днів. Реакційну суміш випарювали та додавали додаткову кількість диметилацеталу N,N-диметилформаміду та суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом додаткових 4 годин. Розчинник випарювали та продукт очищували на силікагелі, елюент: 1% MeOH в DCM, 2%. Очищені фракції випарювали з одержанням проміжної сполуки 39 (60 г, 97%).

Проміжна сполука 40



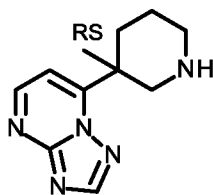
Розчин проміжної сполуки 39 (60 г, 0,21 моль) і гідрохлориду 1H-1,2,4-триазол-5-аміну (22,3 г, 0,27 моль) в оцтовій кислоті (53 мл) перемішували із нагріванням зі зворотним холодильником протягом 1 години. Додавали воду та продукт екстрагували етером. OL промивали сольовим розчином та висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали з одержанням проміжної сполуки 40 (62 г, 96%).

Проміжна сполука 41

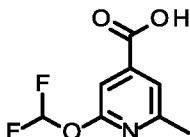


Проміжну сполуку 40 (500 мг, 1,65 ммоль) перемішували в DMF (50 мл) за к. т. в потоці N_2 . Додавали NaH (60% дисперсія в мінеральному маслі, 72 мг, 1,8 ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хв. Додавали метилйодид (2,57 мг, 1,8 ммоль) і суміш перемішували протягом 2 годин за к. т. Реакційну суміш гасили водою та випарювали. Додавали воду та продукт екстрагували за допомогою EtOAc. OL промивали сольовим розчином, висушували над MgSO_4 , фільтрували та випарювали. Одержане очищували за допомогою препаративної HPLC на (RP Vydac Denali C18 - 10 мкм, 200 г, 5 см; рухома фаза (0,25% розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH) з одержанням проміжної сполуки 41 (250 мг, 48%).

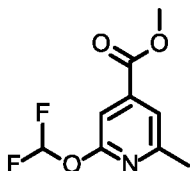
Проміжна сполука 42



- Проміжну сполуку 41 (200 мг, 0,85 ммоль) перемішували в MeOH (20 мл) і додавали 6 н. HCl в i-PrOH (23 мл). Суміш перемішували протягом 1 години. Реак. сум. випарювали з одержанням проміжної сполуки 42 (250 мг, 100%).
- Проміжна сполука 48



- Стадія 1.
- Проміжна сполука 49

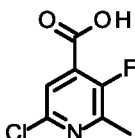


- Додавали NaH (1,37 г, 34,4 ммоль, 60% дисперсія в мінеральному маслі) до зависі метил-2-гідрокси-6-метилізонікотинату (2,3 г, 13,76 ммоль) в ACN (150 мл) за 0 °C і в атмосфері N₂. Забезпечували досягнення реак. сум. к. т. та її перемішували протягом 45 хв. Потім додавали по краплях 2,2-дифтор-2-(фторсульфоніл)оцтову кислоту (3,16 г, 17,76 ммоль) до реакційної суміші, яку додатково перемішували за к. т. протягом 15 годин. Після цього одержане гасили насиченим водним розчином NH₄Cl й одержану суміш екстрагували за допомогою DCM (100 мл х 3). Об'єднані органічні екстракти висушували над MgSO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії із застосуванням як елюента градієнта гептан/EtOAc, від 100/0 до 50/50, з одержанням проміжної сполуки 49 (2,21 г, 73,9%).

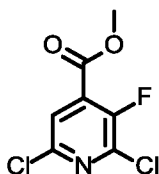
- Стадія 2
- Проміжна сполука 48

- Водний розчин NaOH (15 мл, 15 ммоль, 1 М) додавали до розчину проміжної сполуки 49 (2,11 г, 9,72 ммоль) в етанолі (15 мл). Одержану суміш перемішували протягом 1 год., потім її обробляли водним розчином HCl (15 мл, 15 ммоль, 1 н.). Утворювався білий осад і його фільтрували, промивали холодною водою, потім висушували у вакуумній печі протягом ночі з одержанням проміжної сполуки 48 (1,75 г, 88,6%).

Проміжна сполука 50



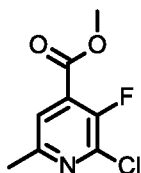
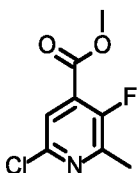
- Стадія 1
- Проміжна сполука 51



Додавали концентровану H_2SO_4 (0,791 мл, 4,85 ммоль, 1,84 г/мл) до розчину 2,6-дихлор-3-фторізонікотинової кислоти ([149468-00-8], 5,5 г, 26,19 ммоль) в MeOH (99 мл) й одержану суміш нагрівали до 85°C протягом 12 год. Після цього додавали додаткову кількість H_2SO_4 (0,791 мл, 14,846 ммоль, 1,84 г/мл) і реак. сум. перемішували за 90°C протягом 24 год. Реакційну суміш охолоджували до к. т., розчинник випарювали та додавали лід до одержаного залишку. Утворювався осад і його фільтрували, промивали крижаною водою та висушували у вакуумній печі протягом 2 днів з одержанням проміжної сполуки 51 (4,35 г, 19,4 ммоль) у вигляді бежевої твердої речовини.

Стадія 2

Проміжні сполуки 52a і 52b



Проміжна сполука 52A Проміжна сполука 52B

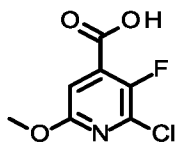
Розчин проміжної сполуки 51 (3,95 г, 17,6 ммоль) і триметилбороксин (1,66 мл, 5,82 ммоль, 3,5 М в THF) в безводному 1,4-діоксані (128 мл) дегазували протягом 15 хвилин. Послідовно додавали ацетат паладію(II) (198 мг, 0,88 ммоль), трициклофенілфосфін (494 мг, 1,76 ммоль) і триосновний фосфат калію (11,23 г, 53,0 ммоль) й одержану суміш дегазували, потім перемішували та нагрівали за 110°C протягом 18 год. у пробірці для проведення реакцій під тиском. Реак. сум. охолоджували до к. т. і розчинник випарювали in vacuo. Одержаний залишок розділяли між водою та EtOAc. Одержану двофазну суміш розділяли та водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (3 x). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином (1 x), висушували над MgSO_4 , фільтрували та розчинник випарювали in vacuo. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта гептан/EtOAc, від 100/0 до 90/10, з одержанням проміжної сполуки 52a (980 мг, 27%) і його регіоізомеру 52b (460 мг, 12,8%).

Стадія 3

Проміжна сполука 50

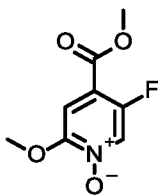
Розчин LiOH (277 мг, 11,5 ммоль) у воді (10 мл) додавали до перемішаного розчину проміжної сполуки 52a (785 мг, 3,85 ммоль) в THF (10 мл). Реак. сум. перемішували за к. т. протягом 1,5 год., потім леткі речовини випарювали in vacuo. pH одержаного водного залишку доводили до ~2 шляхом обробки водним розчином HCl (1 М). Утворювався білий осад і його фільтрували, промивали крижаною водою та висушували у вакуумній печі протягом 2 днів з одержанням проміжної сполуки 50 (491 мг, 67%) у вигляді білої твердої речовини.

Проміжна сполука 53



Стадія 1

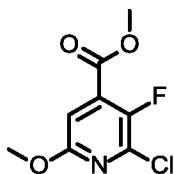
Проміжна сполука 54



Однією порцією додавали метилтриоксореній(VII) (0,443 г, 1,78 ммоль) до холодного (0 °С) розчину метил-5-фтор-2-метоксиізонікотинату (4 г, 21,6 ммоль) у DCM (71 мл) з наступним додаванням по краплях пероксиду водню (64,3 мл, 0,735 моль, 35% у воді). Реак. сум. залишали нагріватися до к. т., а потім нагрівали до 35°C. Через 24 год. додавали додаткову кількість метилтриоксоренію(VII) (0,2 г, 0,80 ммоль) і реак. сум. залишали перемішуватись за 35°C протягом 2 днів. Порціями 3 х додавали метилтриоксореній(VII) (0,2 г, 0,802 ммоль) і пероксид водню (30 мл, 0,343 моль, 35% у воді) протягом 8 год. і реак. сум. перемішували за 27°C протягом 16 год. Реак. сум. охолоджували у льодяній бані, потім її гасили шляхом додавання порціями діоксиду мангану (УВАГА! Інтенсивне виділення газу та тепла) до припинення виділення газу з одержанням чорної суміші. Одержане об'єднували з іншою партією реакційної суміші, одержаною в результаті реакції, починаючи з 1 г метил-5-фтор-2-метоксиізонікотинату. Об'єднані реакційні суміші фільтрували через пробку з Celite®, яку промивали за допомогою DCM. Двофазний фільтрат розділяли та водну фазу екстрагували за допомогою DCM (3x20 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували і випарювали in vacuo. Одержаний залишок (4,9 г) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта гептан/EtOAc, від 100/0 до 0/100, з одержанням проміжної сполуки 54 (585 мг).

Стадія 2.

Проміжна сполука 55



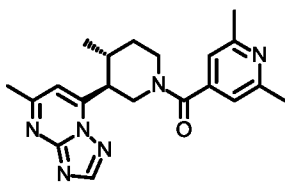
Суспензію проміжної сполуки 54 (585 мг, 2,91 ммоль) в оксихлориді фосфору (4,1 мл, 43,6 ммоль) перемішували та нагрівали до 105°C на масляній бані. Через 1,5 год. розчинник видаляли in vacuo. До одержаного залишку додавали лід (10 мл) та водну суміш екстрагували за допомогою DCM (3x20 мл). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, висушували над MgSO₄ та випарювали in vacuo. Одержаний залишок (580 мг) очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта гептан/DCM, від 100/0 до 50/50, з одержанням проміжної сполуки 55 (522 мг, 72,7%)

СТАДІЯ 3. ПРОМІЖНА СПОЛУКА 53

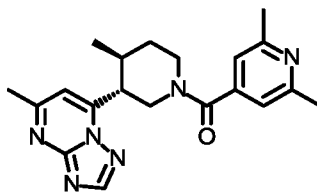
Додавали розчин LiOH (152 мг, 6,35 ммоль) у воді (5,7 мл) до перемішаного розчину проміжної сполуки 55 (522 мг, 2,12 ммоль) в THF (5,7 мл). Реак. сум. перемішували за к. т. протягом 1,5 год., потім леткі речовини випарювали in vacuo. pH одержаного водного залишку доводили до ~3 шляхом обробки водним розчином HCl (1 M). Утворювався білий осад і його фільтрували, промивали крижаною водою та висушували у вакуумній печі з одержанням проміжної сполуки 53 (172 мг, 39%) у вигляді білої твердої речовини. Фільтрат випарювали до сухого стану за зниженого тиску з одержанням літєвої солі сполуки 53 (366 мг).

В. Синтез кінцевих сполук

Сполука 1a і сполука 1b



Спол. № 1a



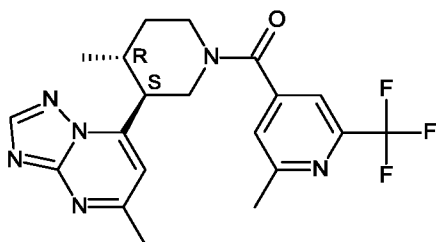
Спол. № 1b

Суміш I-12 (0,27 г, 0,001 моль) і 2,6-диметилізоніотинової кислоти (0,16 г, 0,001 моль) в DCM (10 мл) обробляли DIPEA (0,69 мл, 0,75 г/мл, 0,004 моль) та HBTU (0,38 г, 0,001 моль).
 5 Перемішування продовжували протягом 16 год. Реак. сум. розбавляли водою (5 мл), підкислювали за допомогою 1 М HCl до pH~3 і шари розділяли, і OL промивали за допомогою 1 М NaOH до pH~9, води, потім висушували над MgSO₄, фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням масла (0,8 г). Очищення проводили за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD-10 мкм, 50 x 150 мм, рухома фаза: 0,25% розчин NH₄HCO₃ у воді, MeOH) з одержанням двох фракцій. Очищення проводили із застосуванням препаративної
 10 SFC (нерухома фаза: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 мм, рухома фаза: CO₂, EtOH з 0,4% iPrNH₂) з одержанням 4 фракцій, з яких дві забезпечили одержання сполук 1b (64 мг, 18%) і 1a (70 мг, 19%).

Сполуки 2a-3b одержували аналогічним чином, що і сполуки 1a і 1b з вказаної вихідної речовини.

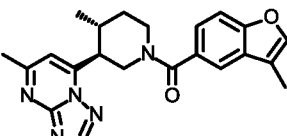
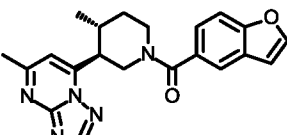
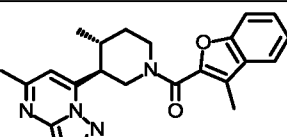
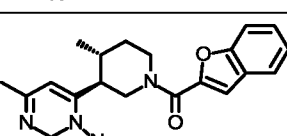
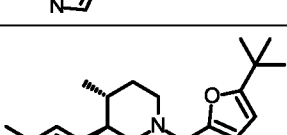
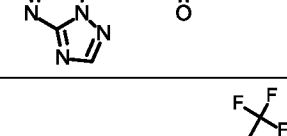
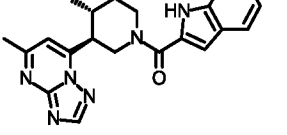
№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
2a		I-12a	82
2b			82
3a		I-12a [802256-42-4]	12
3b		I-12b	

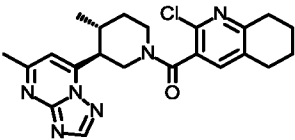
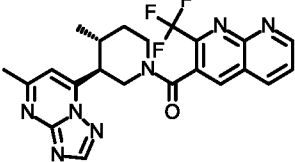
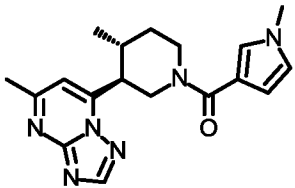
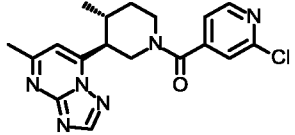
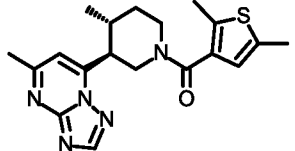
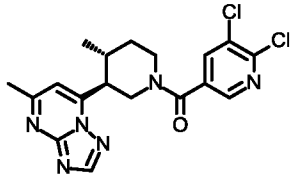
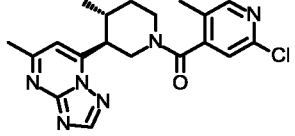
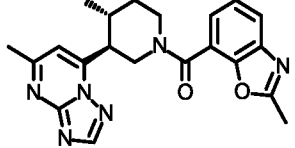
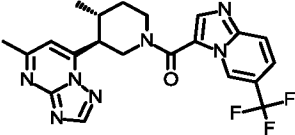
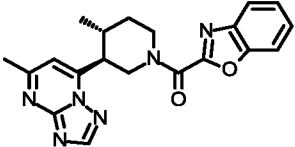
Сполука 4

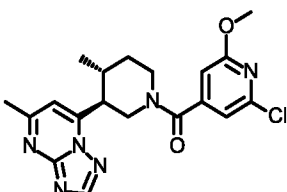
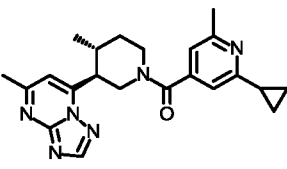


2-Метил-6-(трифторметил)ізонікотинову кислоту (101 мг, 0,493 ммоль) перемішували в DCM (20 мл). Додавали DIPEA (0,34 мл, 0,75 г/мл, 1,97 ммоль) і HBTU (206 мг, 0,542 ммоль), перемішування продовжували протягом 20 хв. за к. т. Додавали I-13a (150 мг, 0,493 ммоль) та перемішування продовжували протягом ночі за к. т. Реак. сум. гасили водою, перемішували 20 хв., потім OL відділяли. Водний шар повторно екстрагували за допомогою 2хDCM. Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, потім відділяли та висушували над MgSO_4 , фільтрували та концентрували in vacuo. Дану речовину очищували за допомогою флеш-хроматографії на силікагелі з елююванням 0-5% MeOH в DCM з одержанням неочищеної сполуки 4 (120 мг, вихід 52,931%). Очищення проводили за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, рухома фаза: 0,25% розчин NH_4HCO_3 у воді, MeOH) з одержанням після випарювання спільно з MeOH та висушування у вакуумній печі протягом ночі сполуки 4 (74 мг, 36%).

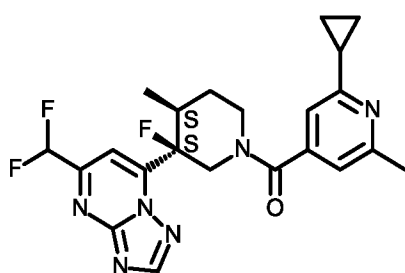
Сполуки 5-23 одержували аналогічним чином, що і сполуку 6, із застосуванням енантімерно чистої проміжної сполуки I-13a.

№ спол.	Структура	Вихід (%)
5		54
6		61
7		56
8		48
9		58
10		8
11		10

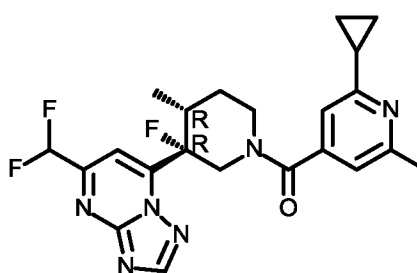
№ спол.	Структура	Вихід (%)
12		57
13		55
14		45
15		11
16		48
17		7,8
18		19
19		55
20		50
21		42

№ спол.	Структура	Вихід (%)
22		58
23		52

Сполука 24a і сполука 24b



Спол. № 24a

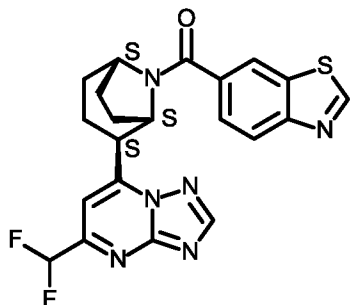


Спол. № 24b

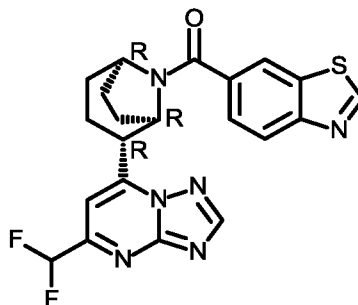
- 5 До перемішаної суміші 2-циклопропіл-6-метилпіридин-4-карбонової кислоти (0,16 г, 0,00075 моль) у DCM (20 мл, 1,33 г/мл, 0,31 моль) додавали HBTU (0,28 г, 0,00075 моль) і DIPEA (0,54 мл, 0,75 г/мл, 0,0031 моль). Після перемішування суміші протягом 30 хв. додавали однією порцією I-19 (0,2 г, 0,00062 моль). Реак. сум. залишали перемішуватись протягом 1 год., а потім додавали 1 М NaOH (5 мл), шари розділяли і OL промивали водою (10 мл), висушували над
- 10 MgSO₄, фільтрували та концентрували in vacuo з одержанням масла. Одержане очищували за допомогою флеш-хроматографії із застосуванням 24 г колонки для флеш-хроматографії Redisep® з елююванням градієнтом 0-5% MeOH в DCM з одержанням масла, яке кристалізували з DIPE (10 мл), з одержанням білої твердої речовини (0,23 г, вихід 83,2%). Очищення проводили за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralpak® Diacel AD 30 x 250 мм, рухома фаза: CO₂, iPrOH з 0,2% iPrNH₂) з одержанням двох фракцій. Обидві фракції перенесли в пробірки та висушували у вакуумній печі (45 °С, 16 год.) і це забезпечувало одержання аморфних твердих речовин спол. № 24a (0,11 г, вихід 39,7%) і спол.
- 15 № 24b (0,11 г, вихід 38,3%).

Сполуки 25a і 25b

20



Спол. № 25a

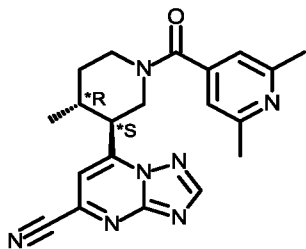


Спол. № 25b

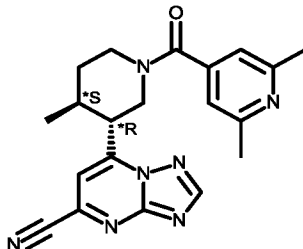
- Бензотіазол-6-карбонову кислоту (142 мг, 0,792 ммоль) перемішували в DCM (15 мл), додавали DIPEA (0,82 мл, 4,8 ммоль) і HBTU (300 мг, 0,792 ммоль). Перемішування продовжували протягом 0,5 год. за к. т. До розчину додавали проміжну сполуку 25 (250 мг, 0,792 ммоль) і перемішування продовжували протягом 2 год. за к. т. Додавали розчин NaOH (1 н., 1
- 25

мл) і перемішували протягом 5 хв. Продукт фільтрували на фільтрі Extrelute і фільтрат випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент: DCM->4% MeOH в DCM. Очищені фракції випарювали з одержанням суміші сполук 25a і 25b (340 мг). Одержане очищували за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralcel® Diacel OD 20x250 мм, рухома фаза: CO₂, EtOH+0,4 iPrNH₂) з одержанням обох продуктів, які кристалізували з Et₂O та одержували спол. № 25a (121 мг, 35%) і спол. № 25b (128 мг, 37%).

Сполуки 26a і 26b



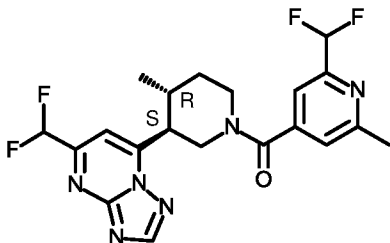
Спол. № 26a



Спол. № 26b

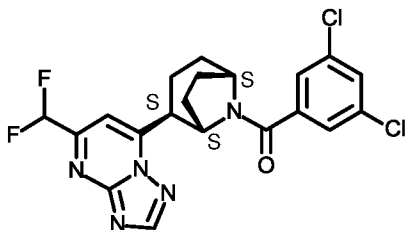
2,6-Диметилізонікотину кислоту (154,845 мг, 1,0 ммоль) перемішували в DCM (10 мл). Додавали DIPEA (0,53 мл, 3,1 ммоль) і HBTU (427 мг, 1,1 ммоль), перемішування продовжували протягом 0,5 години за к. т. Проміжну сполуку 38 (273 мг, 1,1 ммоль) розчиняли в DCM (5 мл) і цю суміш додавали до розчину, при цьому перемішування продовжували протягом 3,5 години за кімнатної температури. Реак. сум. гасили водою, потім два шари розділяли та WL повторно екстрагували за допомогою DCM. OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент: DCM/MeOH, від 100/0 до 97/3 до 94/6, що забезпечувало одержання двох пар діастереомерів у вигляді суміші. Очищення проводили за допомогою препаративної SFC (нерухома фаза: Chiralcel® Diacel OD 20 x 250 мм, рухома фаза: CO₂, EtOH+0,4 iPrNH₂), що забезпечувало одержання двох транс-енантіомерів. Очищення проводили за допомогою препаративної HPLC (нерухома фаза: RP XBridge Prep C18 ODB- 5 мкм, 30 x 250 мм, рухома фаза: 0,25% розчин NH₄HCO₃ у воді, CH₃CN) з одержанням сполуки 26a (26 мг, вихід 6,761%) і 26b (20 мг, вихід 5,201%).

Сполука 321



Проміжну сполуку 9b (. 2HCl, 1,2 г, 3,527 ммоль), 2-(дифторметил)-6-метил-4-піридинкарбовону кислоту (660 мг, 3,527 ммоль), EDCI (1,352 г, 7,053 ммоль) і DIPEA (1,823 г, 14,107 ммоль) в DCM (71,4 мл) перемішували за к. т. протягом 4 год. Реак. сум. промивали за допомогою 1 н. NaOH, OL висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали. Продукт очищували на силікагелі, елюент MeOH/DCM від 0/100 до 3/97. Очищені фракції випарювали та кристалізували з DIPE. Кристали відфільтровували та висушували з одержанням сполуки 321 (920 мг, 60%).

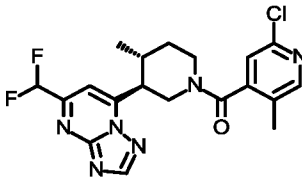
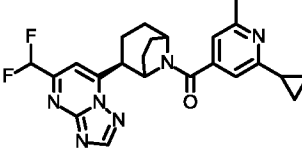
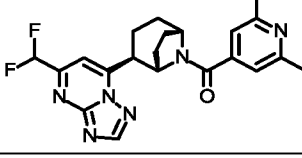
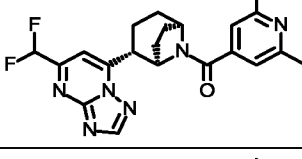
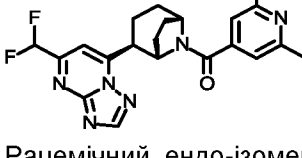
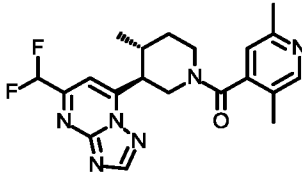
Сполука 333



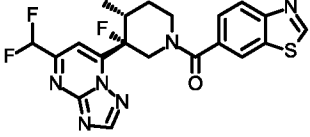
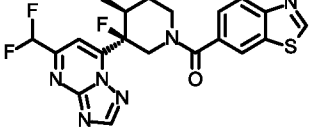
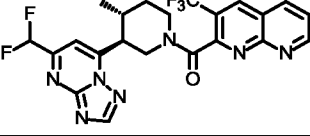
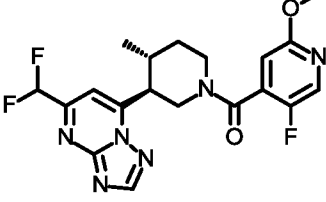
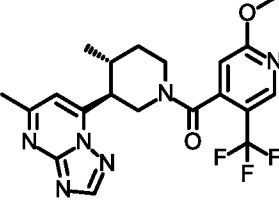
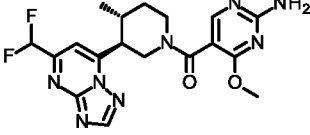
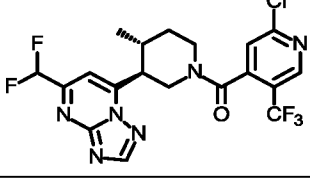
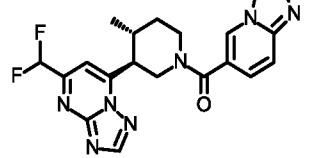
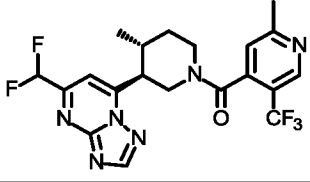
До перемішаного розчину проміжної сполуки 25a (100 мг, 0,317 ммоль) у сухому ACN (5 мл) додавали 3,5-дихлорбензойну кислоту (72,593 мг, 0,38 ммоль). Додавали TEA (0,22 мл, 1,58 ммоль) з наступним додаванням 1-пропанфосфонового ангідриду ([68957-94-8], 0,28 мл, 0,48 ммоль) і суміш перемішували за к. т. протягом 3 год. з одержанням білого осаду в коричневому розчині. Розчинник видаляли *in vacuo* і неочищену речовину розділяли між DCM (10 мл) і насиченим водним розчином NaHCO₃ (10 мл). OL промивали насиченим водним розчином Na₂CO₃ (1x15 мл), висушували (MgSO₄), фільтрували, розчинник видаляли *in vacuo* і випаровували спільно з толуолом (1x20 мл) з одержанням білого осаду в коричневому розчині, який висушували протягом ночі з одержанням коричневих і білих кристалів. Перекристалізація з Et₂O забезпечувала одержання брудно-білих кристалів, які висушували у печі протягом ночі у вакуумній печі за 40°C з одержанням сполуки 333 (88 мг, 61%) у вигляді брудно-білих кристалів.

У таблиці 1 нижче перераховані додаткові сполуки, які одержували аналогічно до вищенаведених прикладів. У випадку, якщо не вказана форма солі, сполуку одержували у вигляді вільної основи. '№ спол.' означає номер сполуки. Реагенти, застосовані у синтезі сполук, або є комерційно доступними, або їх можна одержати за допомогою процедур, відомих фахівцю у даній галузі. Сполуки, одержані аналогічно до сполуки 321, вказані (примітка: сполучення за допомогою EDCI); сполуки, одержані аналогічно до сполуки 333, вказані (примітка: ангідрид фосфонової кислоти) в колонці реагентів.

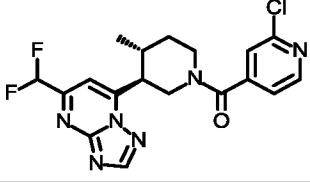
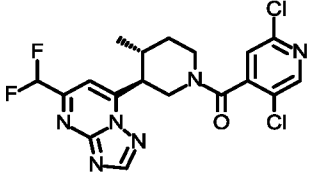
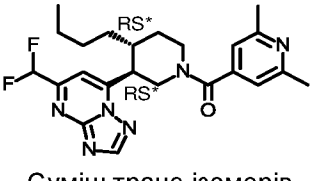
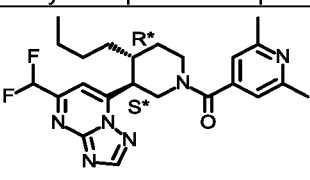
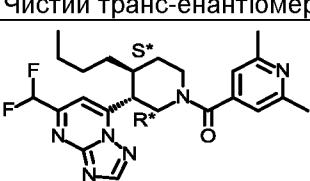
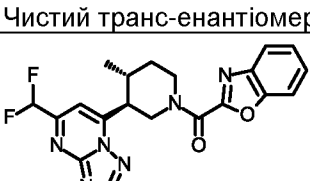
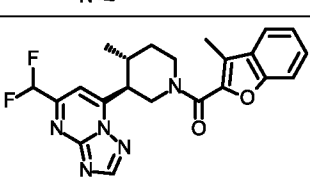
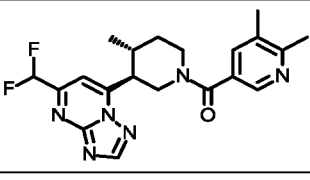
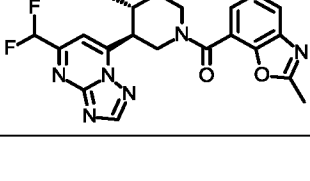
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
27		I-9b	78
28		I-25	35
29		I-25	39
30		I-25	38
31	 Рацемічний, ендо-ізомер	I-25	26
32		I-9b	55

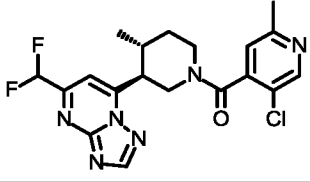
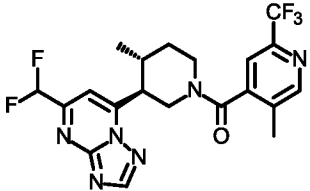
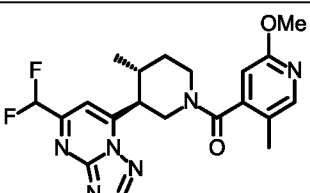
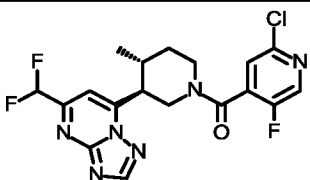
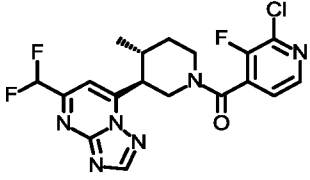
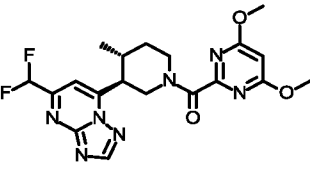
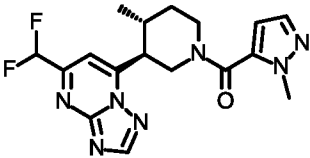
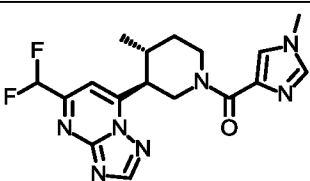
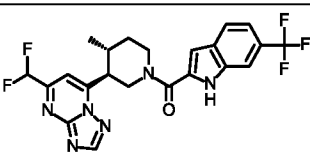
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
33		I-19	44
34		I-19	41
35		I-9b	68
36		I-9b	73
37		I-12a	52
38		I-9b	41
39		I-9b	21
40		I-9b	78
41		I-9b	38

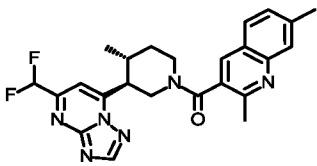
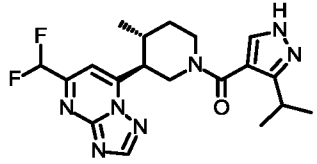
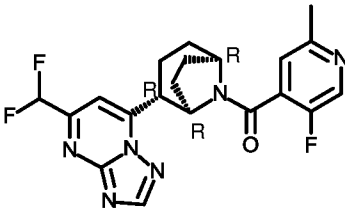
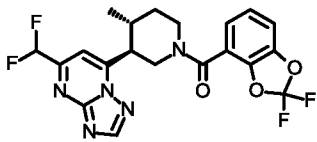
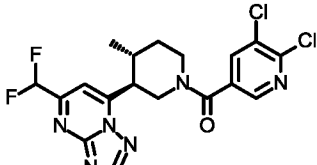
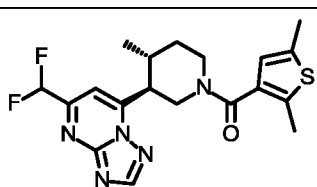
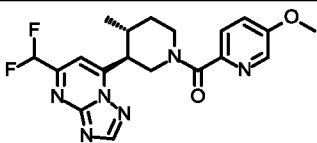
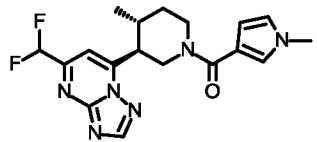
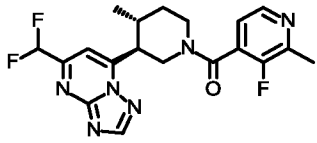
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
42		I-9b	60
43		I-9b	55
44	 Суміш транс-ізомерів	I-28	29
45	 Чистий транс-енантіомер	I-28	12
46	 Чистий транс-енантіомер	I-28	12
47		I-9b	44
48		I-9b	77
49		I-9b	62
50		I-9b	68

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
51		I-9b	31
52		I-9b	6
53		I-9b	17
54		I-9b	53
55		I-9b	63
56		I-9b	51
57		I-9b	61
58		I-9b	75
59		I-9b	72

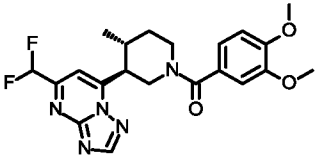
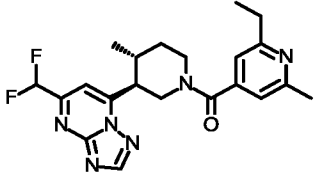
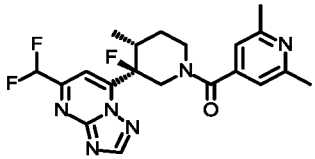
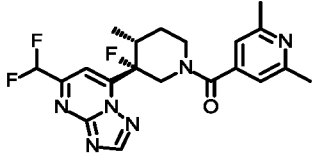
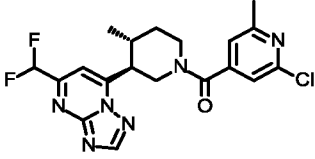
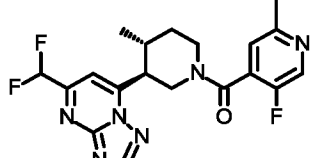
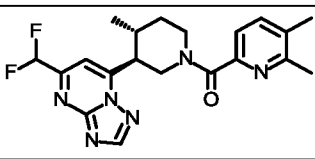
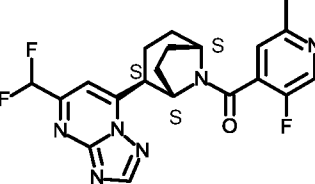
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
60		I-9b	64
61		I-9b	73
62		I-25	42
63		I-9b	40
64		I-9b	60
65		I-9b	49
66		I-9b	57
67		I-9b	63
68		I-9b	48

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
69		I-9b	78
70		I-9b	58
71		I-9b	73
72		I-9b	38
73		I-9b	39
74		I-19	30
75		I-19	32
76		I-9b	36
77		I-9b	42
78		I-9b	58

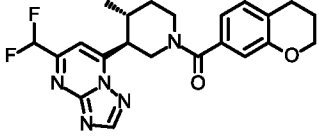
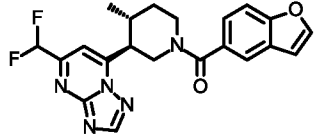
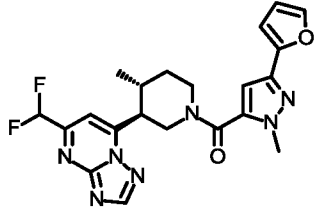
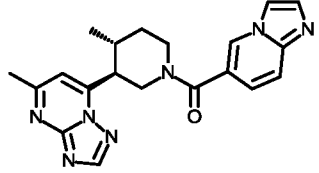
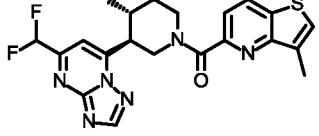
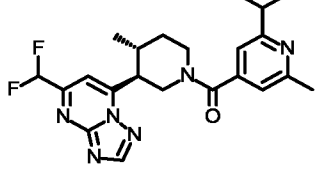
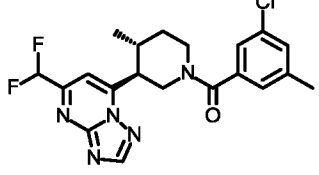
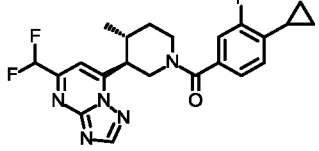
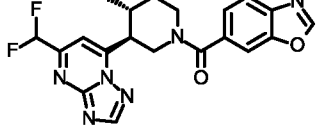
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
79		I-9b	74
80		I-9b	54
81		I-19	30
82		I-19	31
83		I-9b	81
84		I-9b	30
85		I-9b	22
86		I-25	41

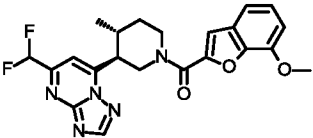
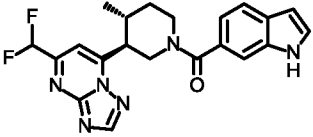
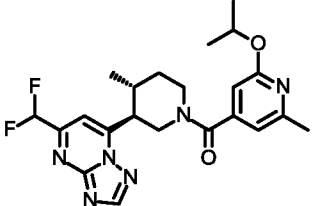
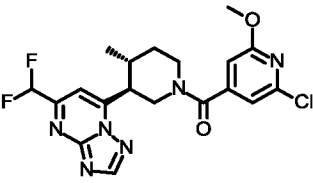
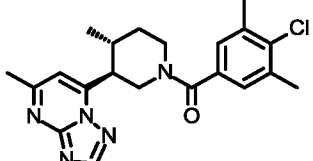
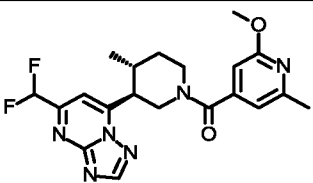
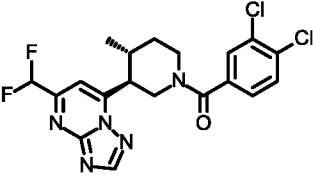
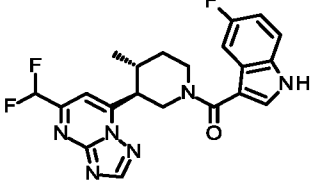
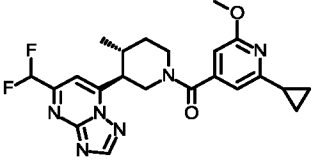
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
87		I-9b	65
88		I-9b [332898-48-3]	27
89		I-9b	46
90		I-9b [1533853-53-0]	73
91		I-9b	33
92		I-9b [501892-99-5]	61
93		I-9b	15
94		I-9b [327-20-8]	25
95		I-25	36

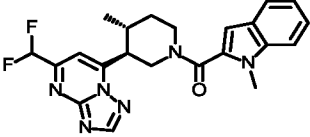
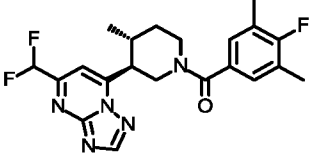
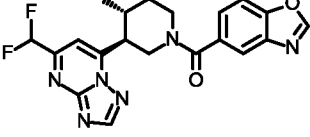
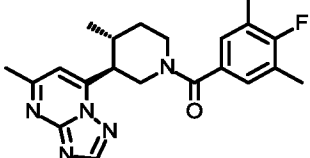
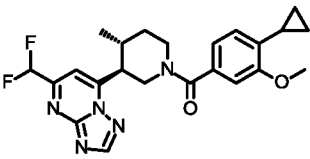
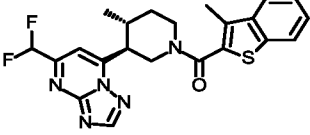
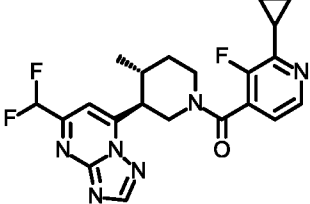
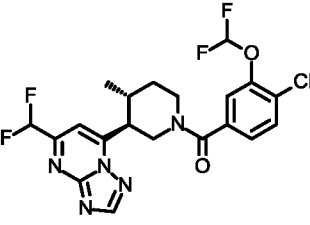
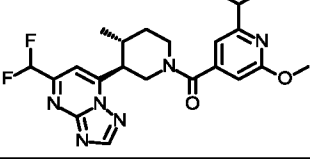
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
96		I-9b [103203-84-5]	83
97		I-9b [90721-27-0]	
98		I-9b [859851-00-6]	60
99		I-9b [139022-25-6]	24
100		I-9b [1372924-05-4]	53
101		I-9b [1011264-07-5]	28
102		I-9b [1427392-05-9]	61
103		I-9b [1247451-23-5]	48
104		I-9b [154235-77-5]	21

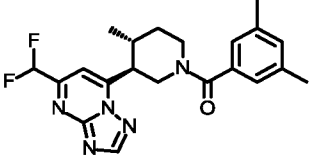
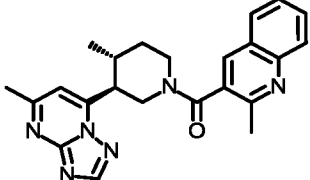
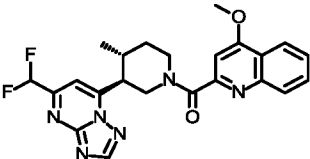
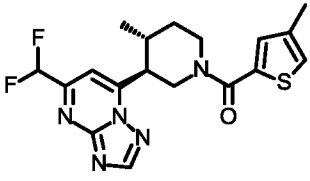
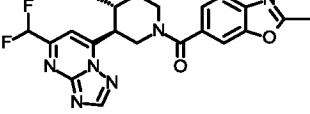
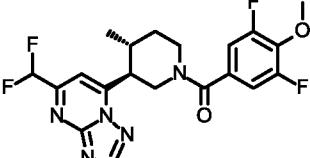
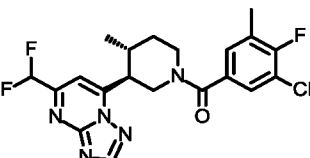
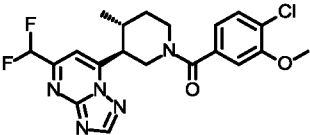
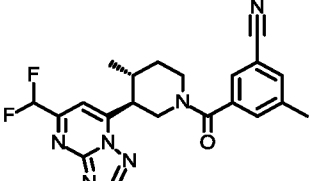
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
105		I-9b [4790-79-8]	60
106		I-9b [1670-82-2]	76
107		I-9b [1011264-06-4]	47
108		I-9b [15855-06-8]	49
109		I-9b [90649-78-8]	21
110		I-9b [1803602-19-8]	51
111		I-9b [51-44-5]	9
112		I-9b [23077-43-2]	41
113		I-9b [1256820-02-6]	42

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
114		I-9b [16136-58-6]	64
115		I-9b [120512-59-6]	64
116		I-9b [15112-41-1]	73
117		I-12a [120512-59-6]	27
118		I-9b [1248462-73-8]	46
119		I-9b [3133-78-6]	67
120		I-9b	45
121		I-9b [1427355-37-0]	65
122		I-9b [1256790-25-6]	36

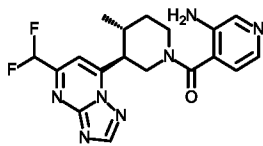
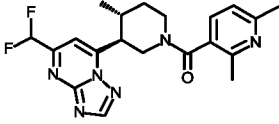
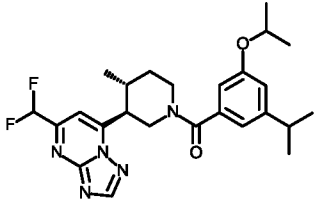
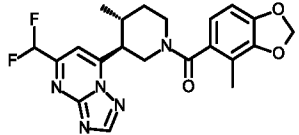
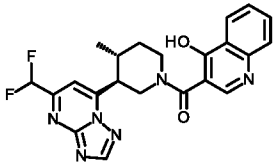
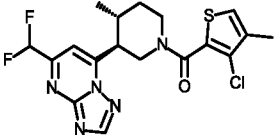
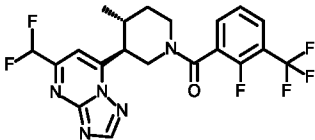
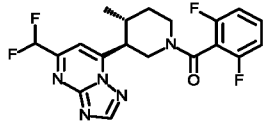
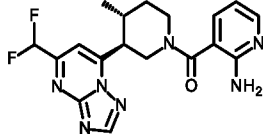
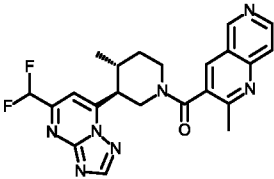
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
123		I-9b [6613-44-1]	38
124		I-9b [470702-35-3]	60
125		I-9b [15733-83-2]	74
126		I-9b [14282-78-1]	35
127		I-9b [13452-14-7]	29
128		I-9b [319-60-8]	63
129		I-9b [1427392-05-9]	44
130		I-9b [85740-98-3]	63
131		I-9b [78621-81-5]	46

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
132		I-9b [1211590-99-6]	45
133		I-9b [162401-65-2]	61
134		I-9b [884494-85-3]	59
135		I-9b	53
136		I-9b [56311-39-8]	53
137		I-9b 4,6-Диметилпіридин-2- карбонова кислота [18088-10-3]	34
138		I-19 Бензофуран-5-карбонова кислота [90721-27-0]	25 (63 % сполучення, 40 % SFC)
139		I-9b 1-Метил-1Н-піразол-3- карбонова кислота [25016-20-0]	67
140		I-25 3-Метилбензофуран-2- карбонілхлорид [2256-86-2]	36
141		I-9b 2,6-Диметилпіримідин-4- карбонова кислота [54198-74-2]	14

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
142		I-9b 3-Амінопіридин-4- карбонова кислота [7529-20-6]	59
143	 . HCl	I-9b 2,6-Диметилнікотина кислота [5860-71-9]	44
144		I-9b 5-(Трет-бутил)ізоксазол-3- карбонова кислота [90607-21-9]	52
145		I-9b 4-Метил-2Н-1,3- бензодіоксол-5-карбонова кислота [162506-58-3]	60
146		I-9b 4-Гідроксініолін-3- карбонова кислота [34785-11-0]	19
147		I-9b 3-Хлор-4-метилтіюфен-2- карбонова кислота [229342-86-3]	52
148		I-9b 2-Фтор-3- (трифторметил)бензойна кислота [115029-22-6]	63
149		I-9b 2,6-Дифторбензойна кислота [385-00-2]	54
150		I-9b 2-Аміонікотина кислота [5345-47-1]	67
151		I-9b 2-Метил-1,6-нафтиридин- 3-карбонова кислота [387350-63-2]	75

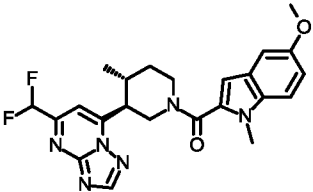
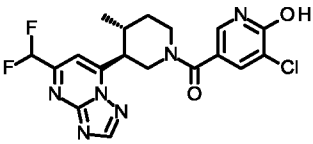
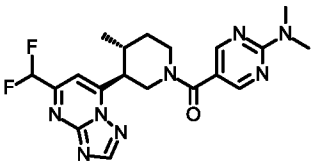
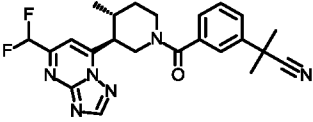
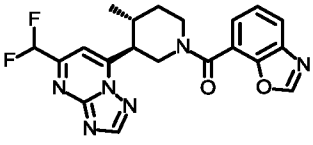
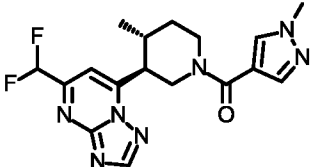
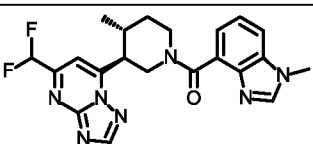
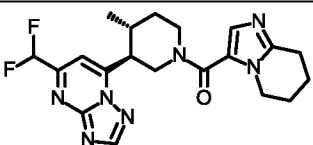
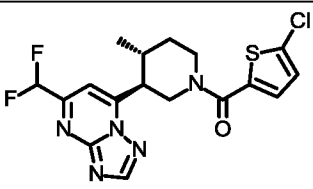
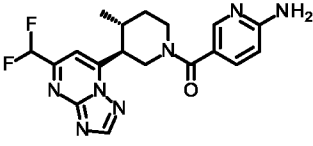
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
152		I-9b 3-Метилізоксазол-5- карбонова кислота [4857-42-5]	63
153		I-9b 5-Бромпіридин-2- карбонова кислота [30766-11-1]	45
154		I-9b 5-Хлорпіридин-2- карбонова кислота [36070-80-1]	65
155		I-9b 3-Фтор-4- піридинкарбонова кислота [131307-35-2]	60
156		I-9b 4-метилоксазол-5- карбонова кислота [2510-32-9]	65
157		I-9b 5-Метилізоксазол-3- карбонова кислота [3405-77-4]	65
158		I-9b 2-Амінотіазол-4-карбонова кислота [112539-08-9]	68
159		I-9b 2-Хлор-3- метилізонікотина кислота [133928-73-1]	54
160		I-9b 4-Метилізоксазол-5- карбонова кислота [261350-46-3]	52
161		I-9b 2-Метил-5- (трифторметил)оксазол-4- карбонова кислота [18955-88-9]	68
162		I-9b 6-Амінопіридин-2- карбонова кислота [23628-31-1]	53

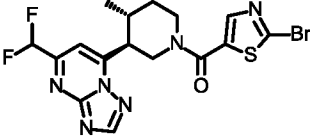
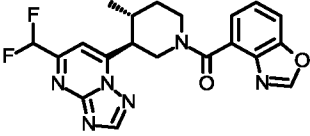
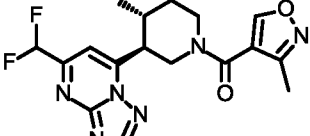
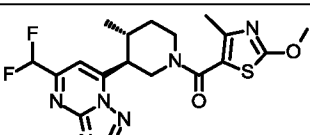
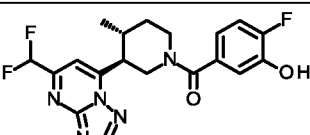
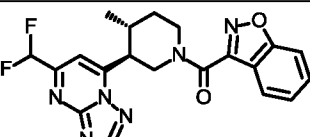
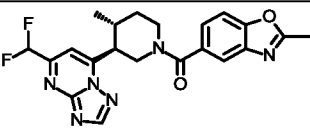
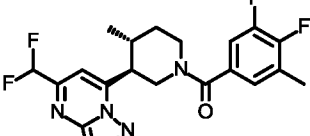
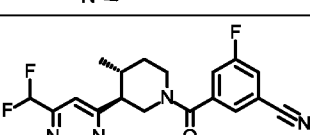
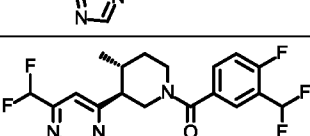
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
163		I-9b 4-Ціанопіридин-2- карбонова кислота [640296-19-1]	67
164		I-9b 1-Метил-1H-імідазол-5- карбонова кислота [41806-40-0]	69
165		I-9b 5-Трет-бутил-2- метоксибензойна кислота [73469-54-2]	61
166		I-9b 2H, 3H-Піразоло[3,2- В][1,3]оксазол-6-карбонова кислота [1239722-75-8]	62
167		I-9b 6- (Трифторметил)нікотинова кислота [231291-22-8]	48
168		I-9b [350-29-8]	25
169		I-9b [1737-36-6]	67
170		I-9b [99058-34-1]	69
171		I-9b [946-13-4]	40

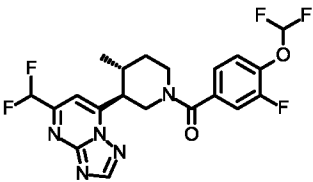
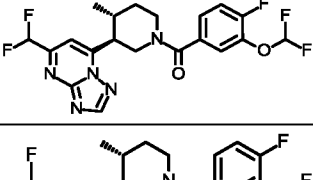
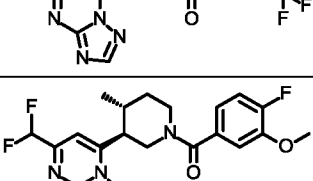
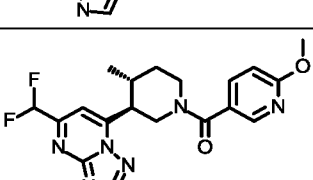
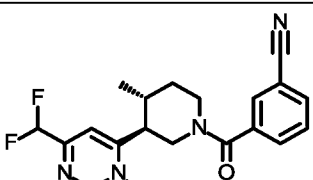
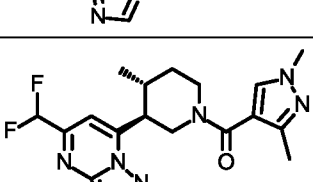
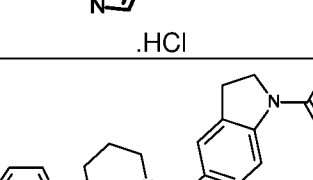
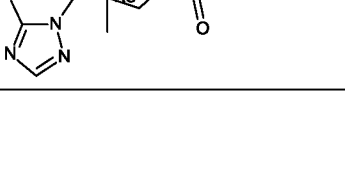
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
172		I-9b [59908-54-2]	58
173		I-9b [54127-63-8]	31
174		I-9b [180283-66-3]	64
175		I-9b [872091-00-4]	59
176		I-9b [208772-24-1]	59
177		I-9b [5952-92-1]	75
178		I-9b [1187732-69-9]	66
179		I-9b [55365-04-3]	68
180		I-9b [24065-33-6]	66
181		I-9b [3167-49-5]	63

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
182		I-9b [54045-76-0]	65
183		I-9b [208772-23-0]	48
184		I-9b [17153-20-7]	67
185		I-9b [126909-38-4]	56
186		I-9b [51446-31-2]	24
187		I-9b [28691-47-6]	58
188		I-9b [90322-32-0]	58
189		I-9b [1017778-60-7]	26
190		I-9b [327056-74-6]	62
191		I-9b	60

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
192		I-9b [886496-49-7]	21
193		I-9b [1214383-15-9]	57
194		I-9b [67515-55-3]	25
195		I-9b [82846-18-2]	76
196		I-9b [26218-80-4]	45
197		I-9b [1877-72-1]	22
198	 .HCl	I-9b [113100-61-1]	49
199		I-42	8,7

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
200		I-30	54
201		I-30	30
202		I-42	31
203		I-30a	87
204		I-30b	89
205		I-12	22

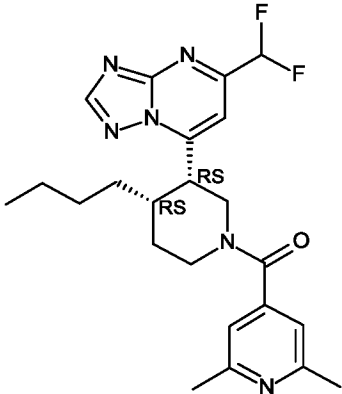
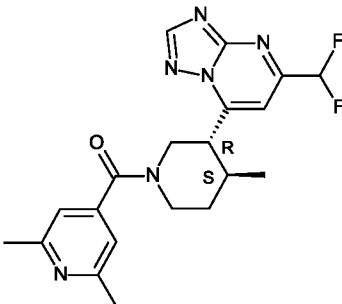
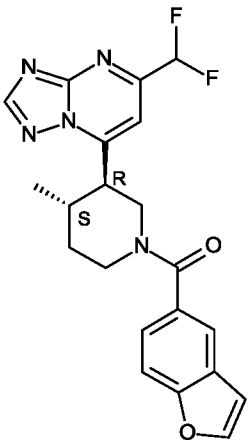
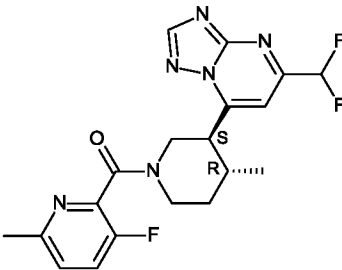
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
206		I-30b	60
207		I-30b	40
208		I-30b	75
209		I-30b	57
210		I-30b	65
211		I-30b	25
212		I-12	14

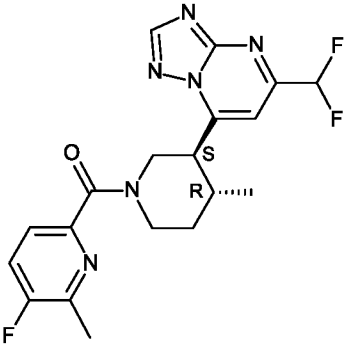
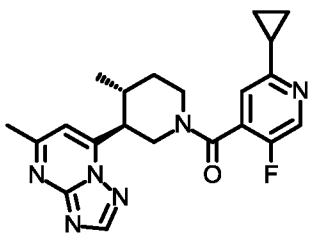
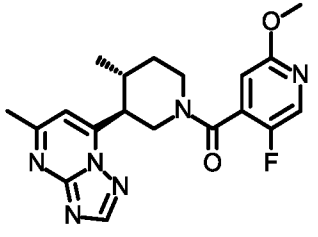
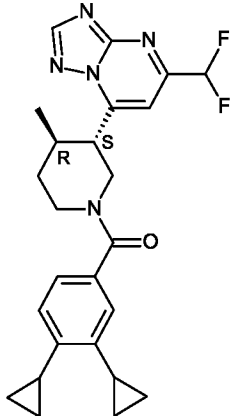
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
213		I-9a	61
214		I-9a	55
215		I-9a	54
216		I-9a	29
217		I-9a	25
218		I-9a	26

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
219		I-28	6
220	 Вільна основа або.HCl	I-9a	42
221		I-9a	58
222		I-9b	24

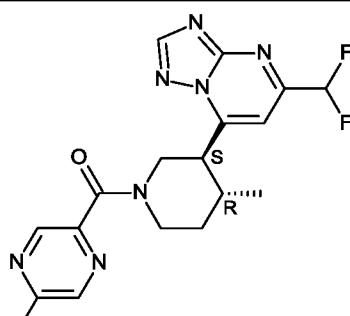
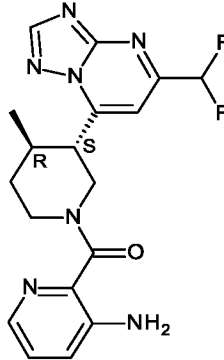
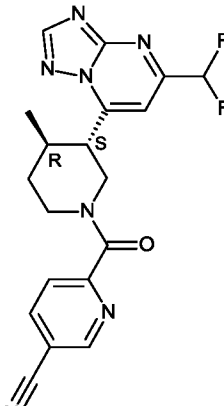
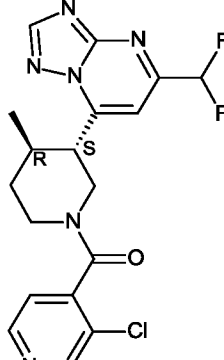
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
223	 .1,30 HCl. H₂O	I-9b	37
224		I-12a	55
225		I-12a	58
226		I-9b	14

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
227		I-9b	49
228		I-9b	50
229		I-9b	83
230		I-25	32
231		I-9b	29

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
232		I-9b	65
233		I-9b	57
234		I-9b	63
235		I-9b	62

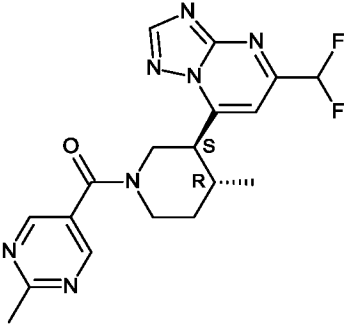
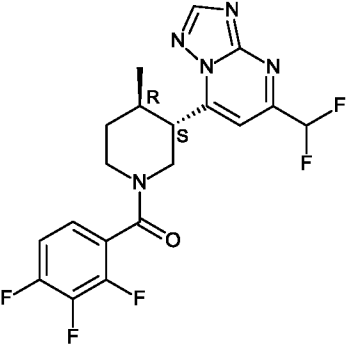
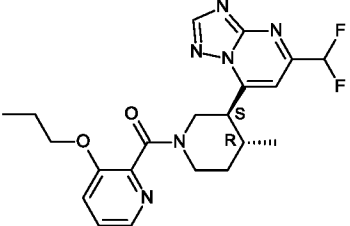
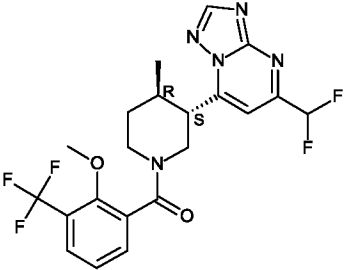
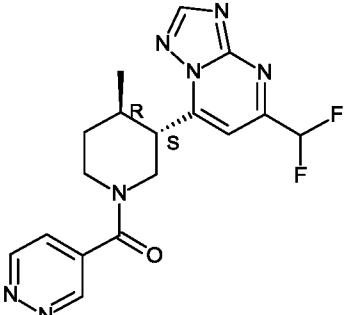
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
236		I-9b	2
237		I-9b	54
238		I-9b	49
239		I-9b	45

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
240		I-9b	59
241		I-9b	66
242		I-9b	67
243		I-9b	44

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
244		I-9b	53
245		I-9b	62
246		I-9b	58
247		I-9b	53
248		I-9b	63

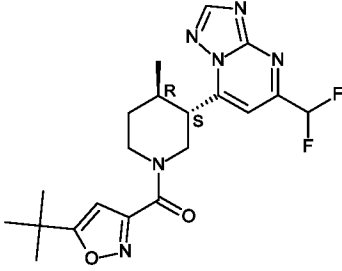
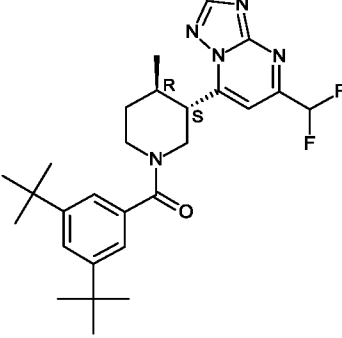
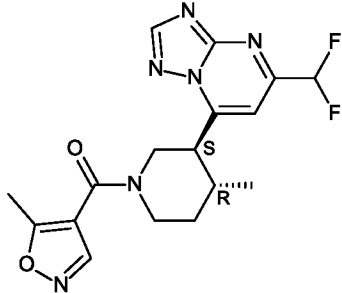
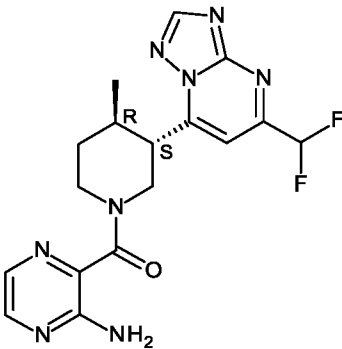
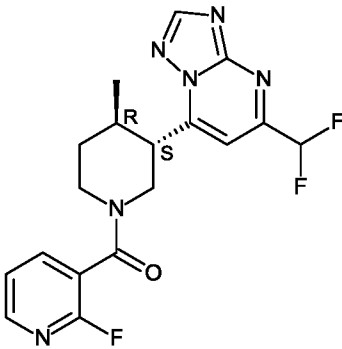
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
249		I-9b	53
250		I-9b	66
251		I-9b	70
252		I-9b	62

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
253		I-9b	62
254		I-9b	50
255		I-9b	64
256		I-9b	63
257		I-9b	59

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
258		I-9b	53
259		I-9b	63
260		I-9b	40
261		I-9b	64
262		I-9b	68

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
263		I-9b	27
264		I-9b	58
265		I-9b	62
266		I-9b	72
267		I-9b	57

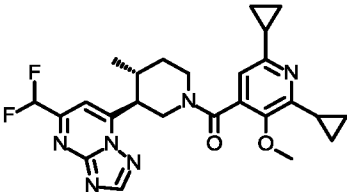
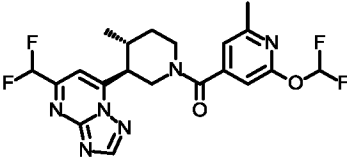
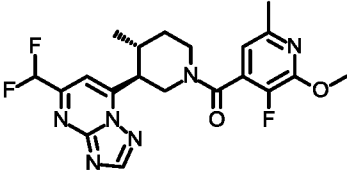
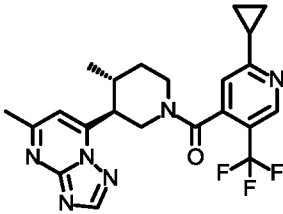
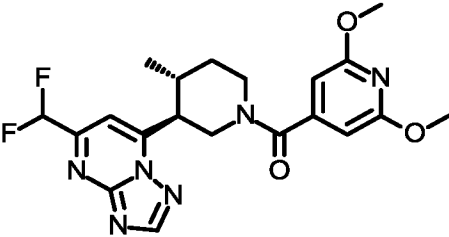
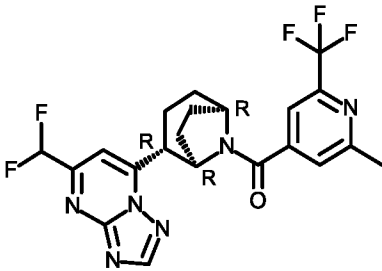
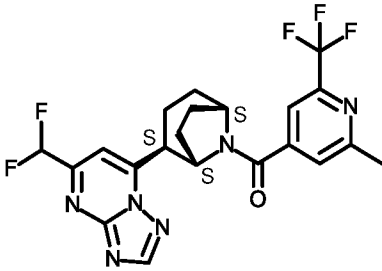
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
268		I-9b	61
269		I-9b	61
270		I-9b	45
271		I-9b	32
272		I-9b	30

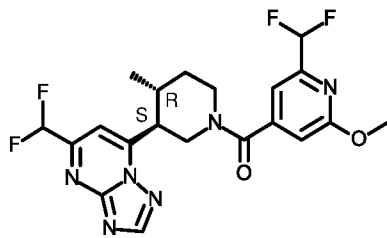
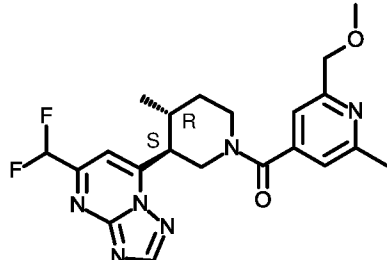
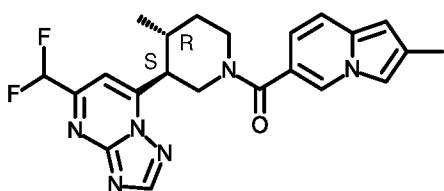
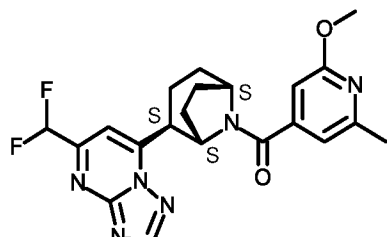
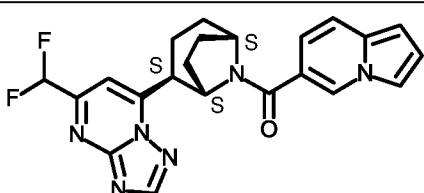
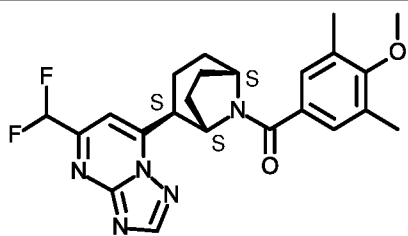
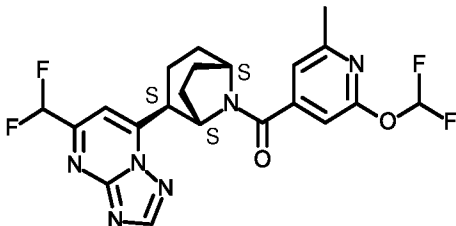
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
273		I-25	37
274		I-25	35
275		I-12a	31
276		I-9b	3
277		I-19a	71
278		I-9b	14
279		I-9b	11

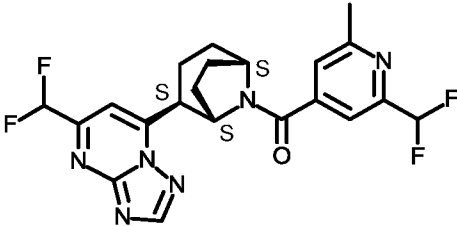
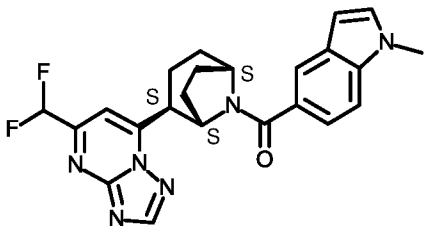
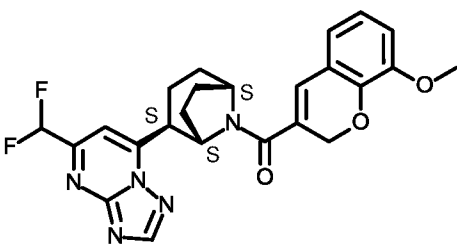
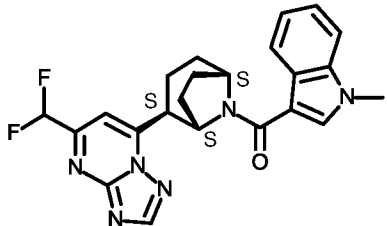
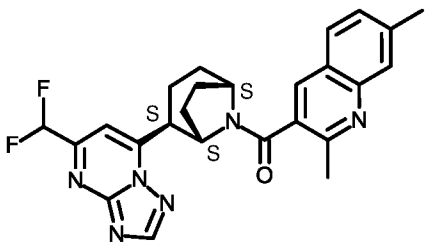
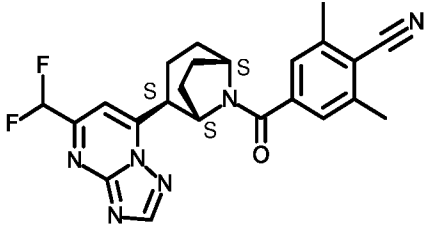
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
280		I-9b	3
281		I-9b	30
282		I-9b	24
283		I-12a	48
284		I-9b	62
285		I-25	7,7
286		I-25	9,7

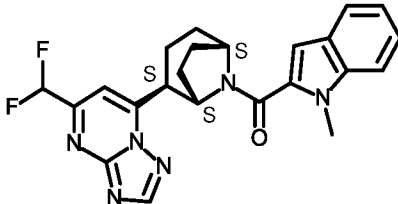
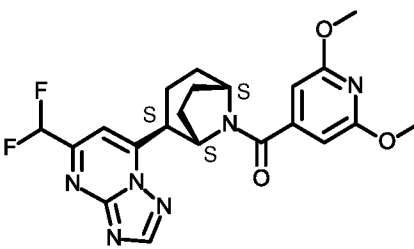
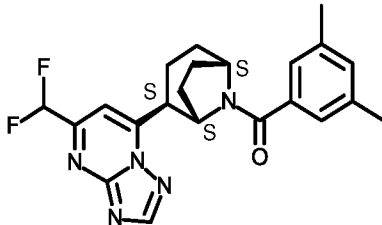
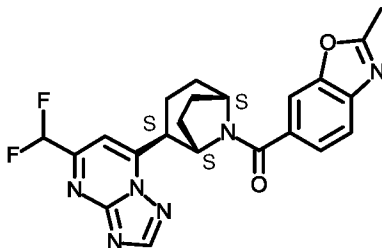
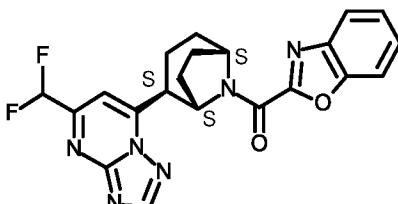
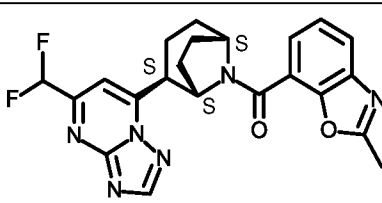
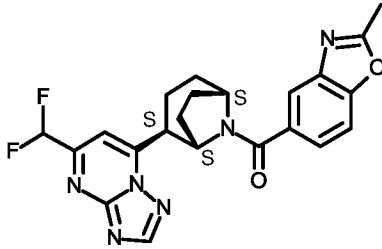
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
287		I-9b	62
288		I-9b	26
289		I-9b	53
290		I-25a	40.
291		I-25a	65
292		I-25a	59
293		I-25a	65

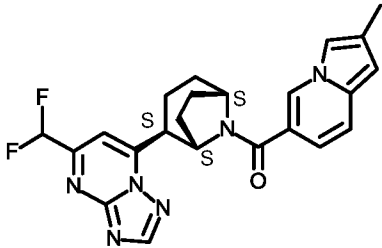
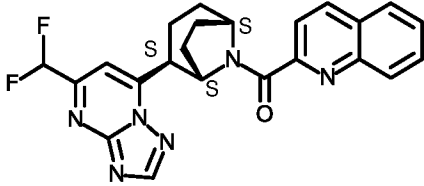
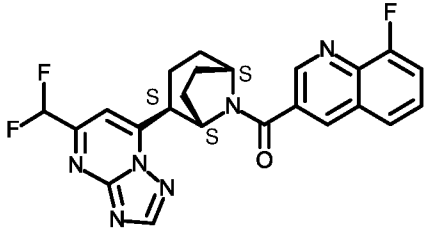
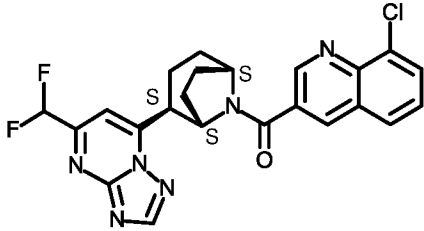
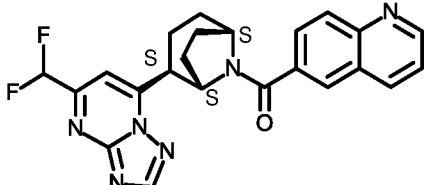
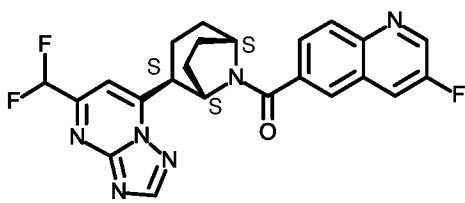
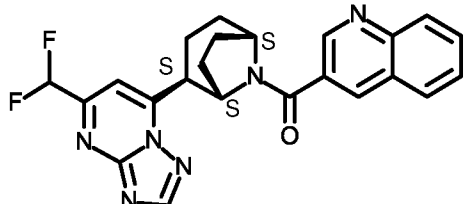
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
294		I-25a	60
295		I-25a	94
296		I-25a	39
297		I-25a	61
298		I-25a	56
299		I-25a	54

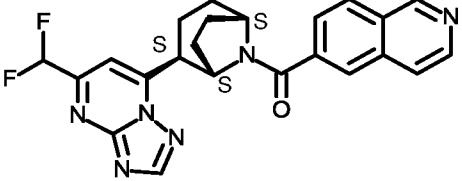
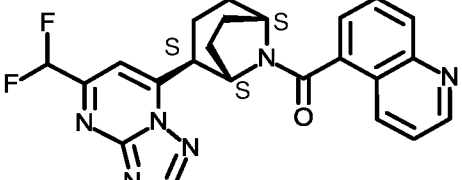
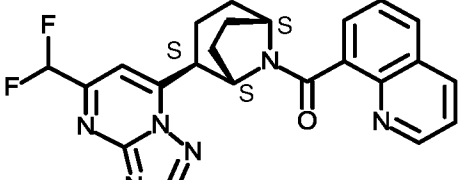
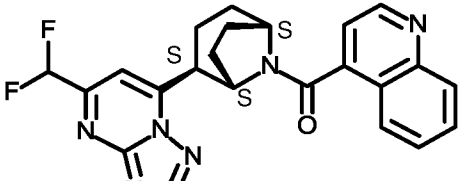
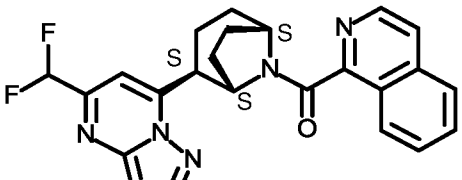
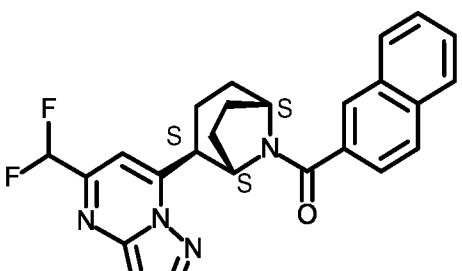
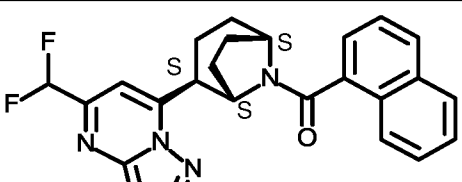
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
300		I-25a	22
301		I-25a	60
302		I-25a	61
303		I-25a	41
304		I-25a	56
305		I-25a	64
306		I-25a	68

Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
307		I-25a	55
308		I-25a	48
309		I-25a	65
310		I-25a	52
311		I-25a	62
312		I-25a	63
313		I-25a	63

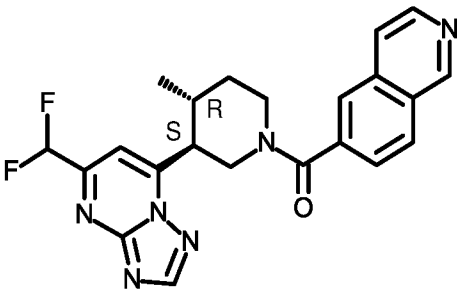
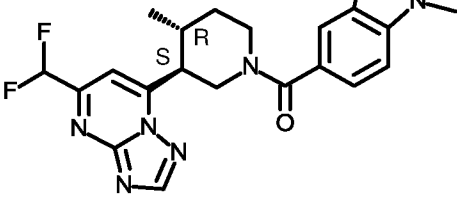
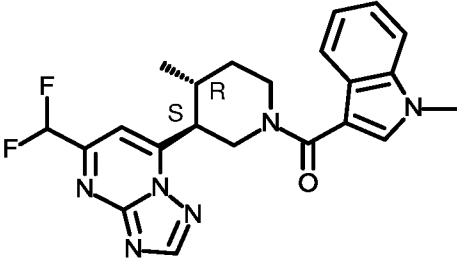
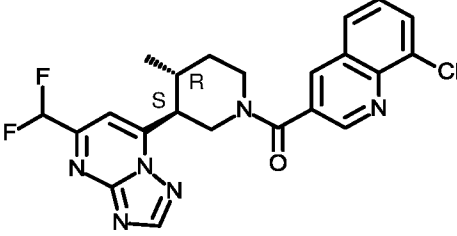
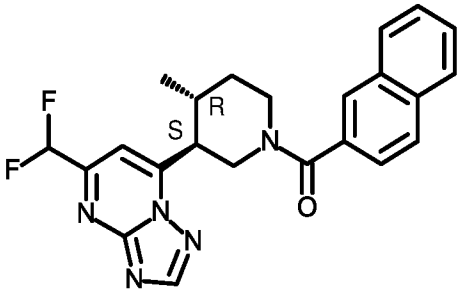
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
314		I-25a	64
315		I-25a	63
316		I-25a	100
317		I-25a	61
318		I-25a	86
319		I-25a	57
320		I-25a	50

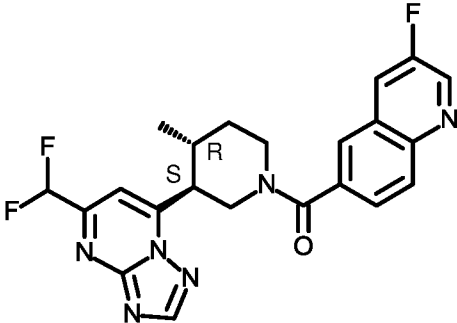
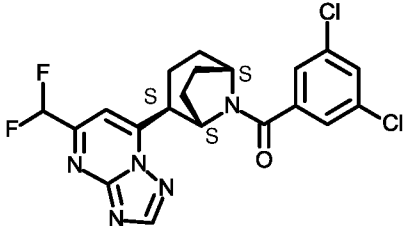
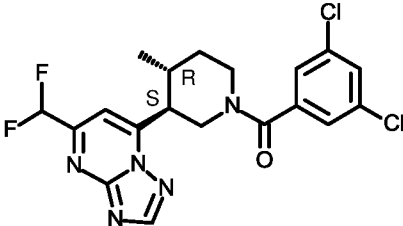
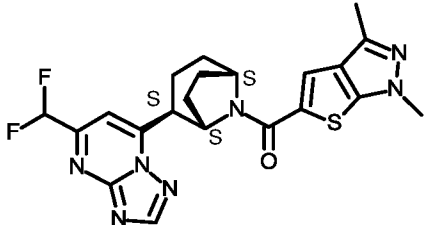
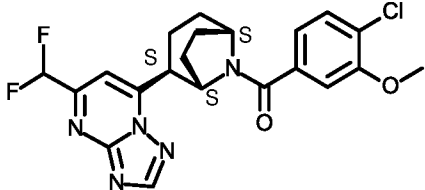
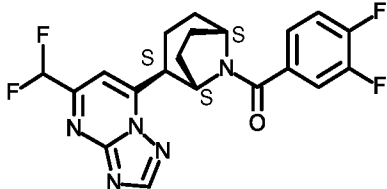
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
321		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	60
322		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	69
323		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	59
324		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	79
325		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	62

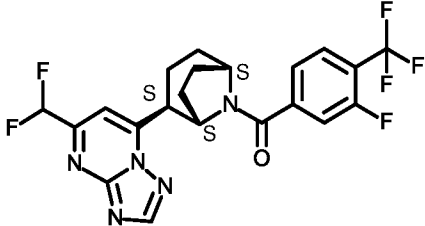
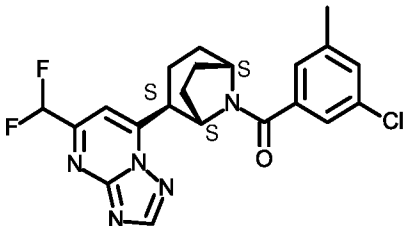
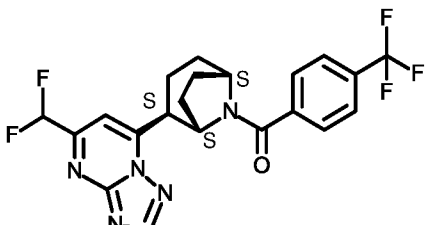
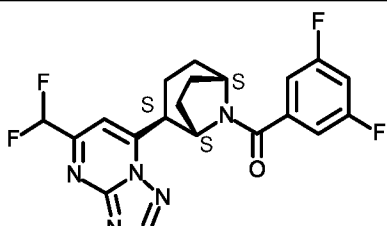
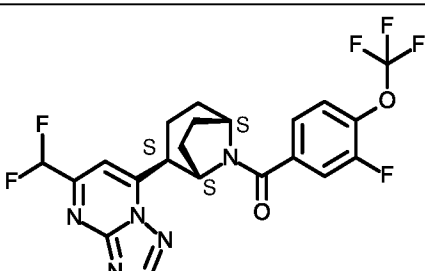
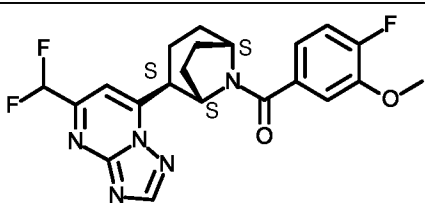
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
326		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	66
327		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	73
328		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	56
329		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	71
331		I-9b (примітка: сполучення за допомогою EDCI)	66

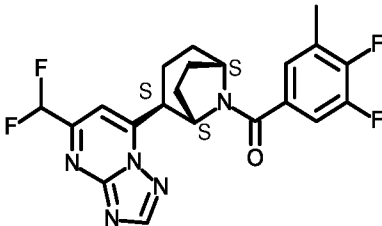
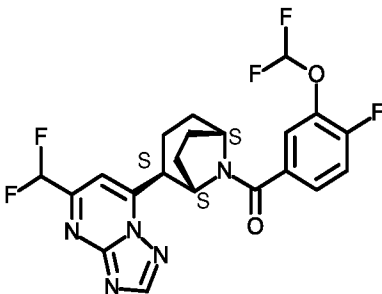
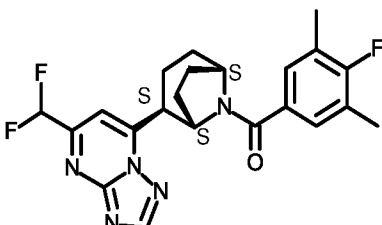
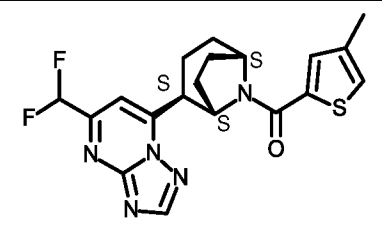
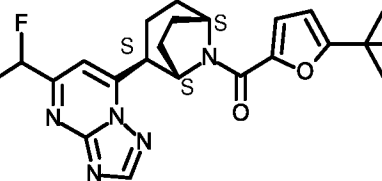
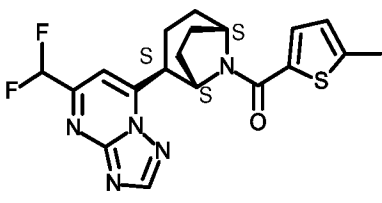
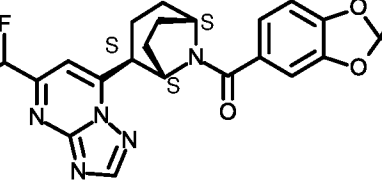
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
332		I-9b	32
333		I-25a (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	61
334		I-9b (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	66
335		I-25a	71
336		I-25a (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	52
337		I-25a	62

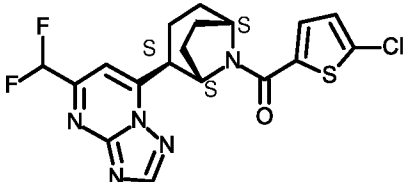
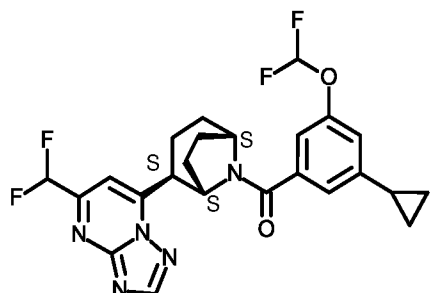
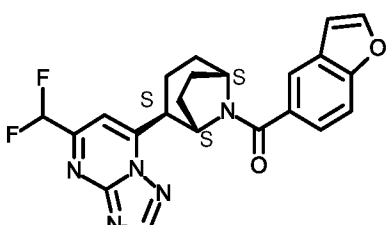
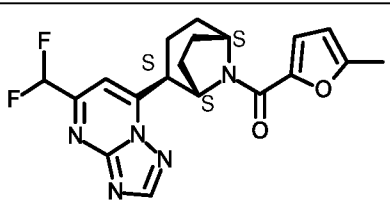
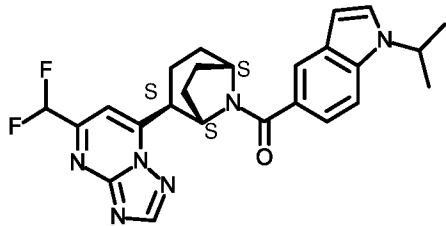
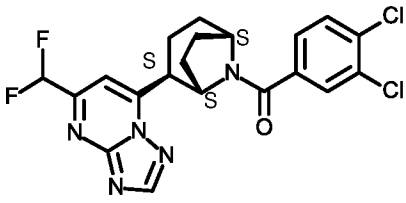
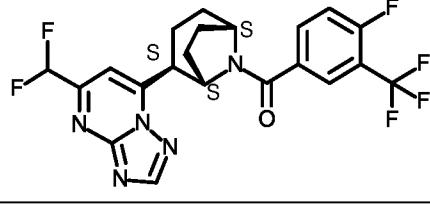
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
338		I-25a	33
339		I-25a	69
340		I-25a	38
341		I-25a	72
342		I-25a	42
343		I-25a (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	58

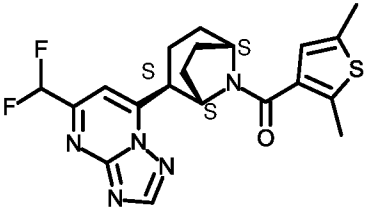
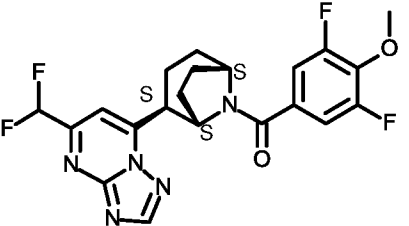
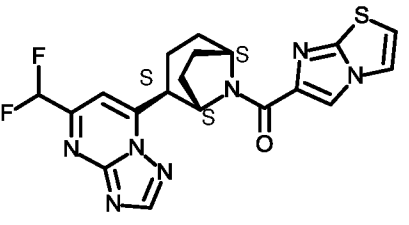
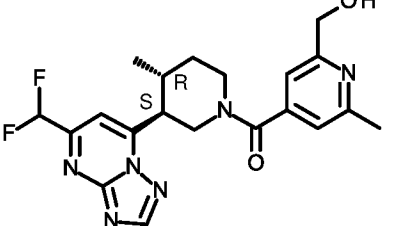
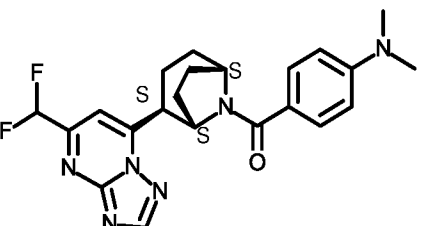
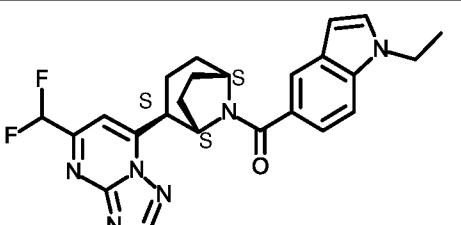
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
344		I-25a	64
345		I-25a (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	42
346		I-25a	41
347		I-25a	52
348		I-25a	51
349		I-25	46
350		I-25a	55

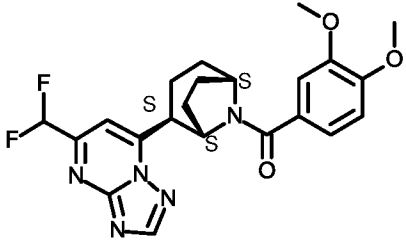
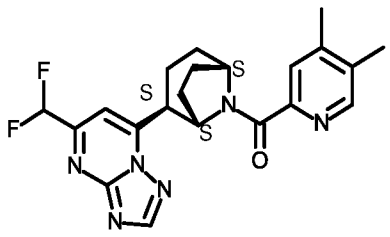
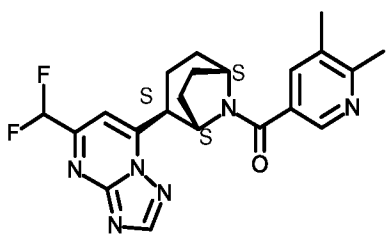
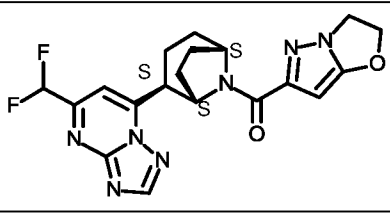
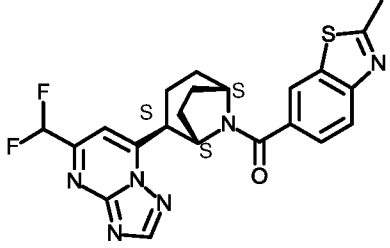
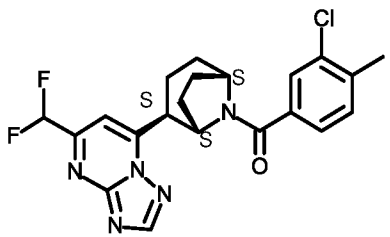
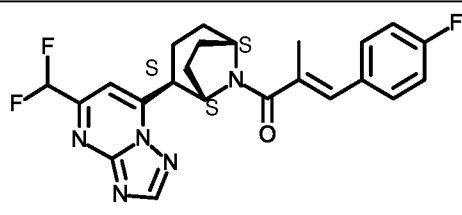
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
351		I-25a	
352		I-25a	67
353		I-25a	66
354		I-25a	59
355		I-25a (примітка: ангідрид фосфонової кислоти)	34
356		I-25a	78
357		I-25a	65

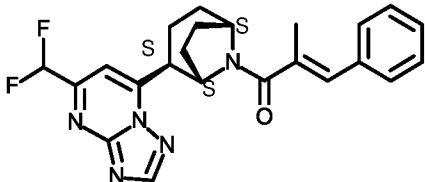
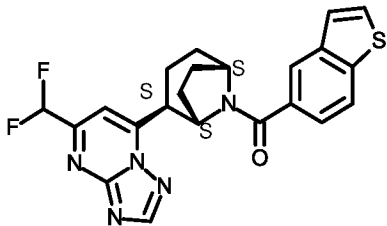
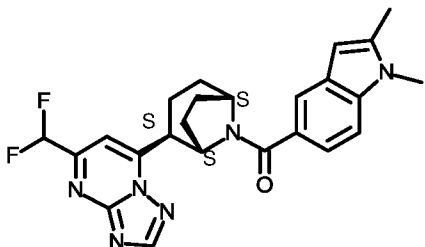
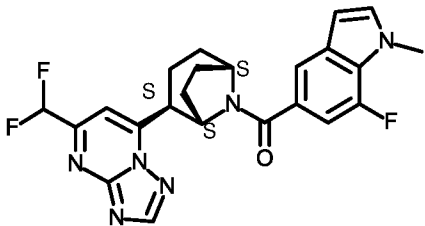
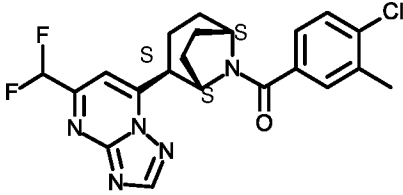
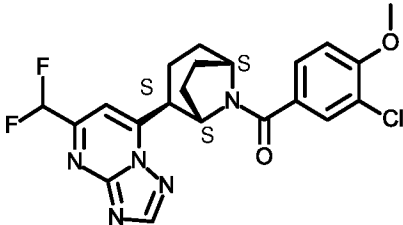
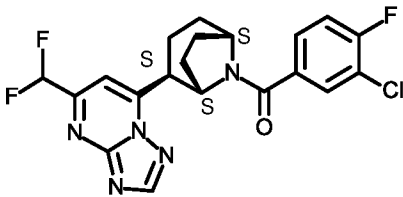
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
358		I-25a	17
359		I-25a	58
360		I-25a	43
361		I-9b	15
362		I-25a	47
363		I-25a	49

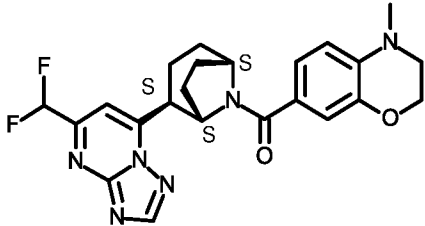
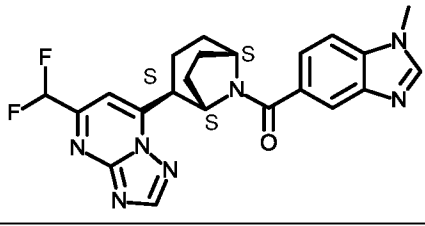
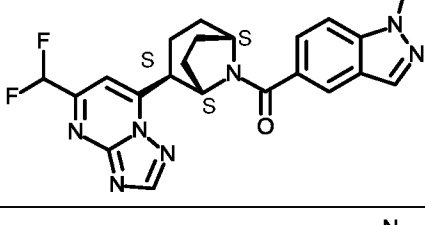
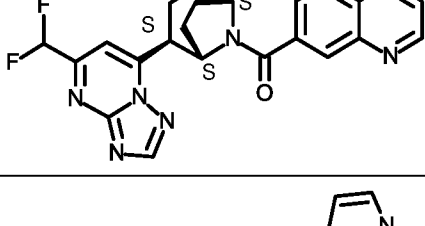
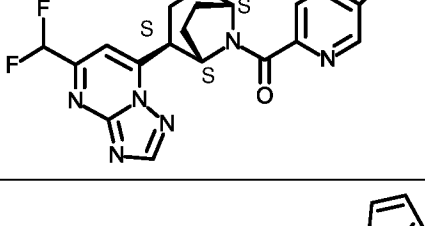
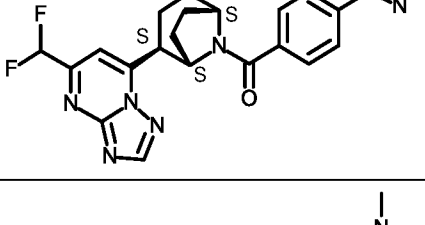
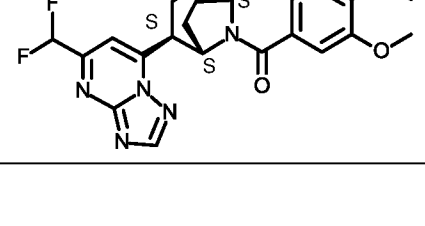
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
364		I-25a	68
365		I-25a	13
366		I-25a	59
367		I-25a	68
368		I-25a	50
369		I-25a	26
370		I-25a	60

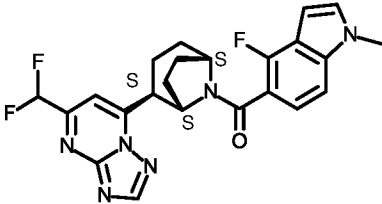
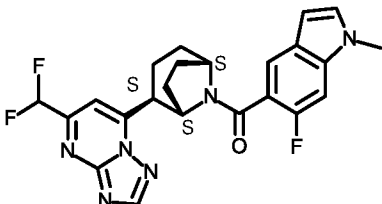
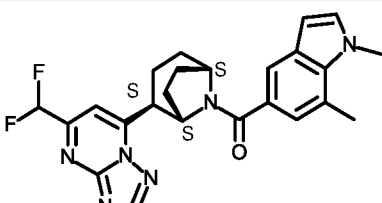
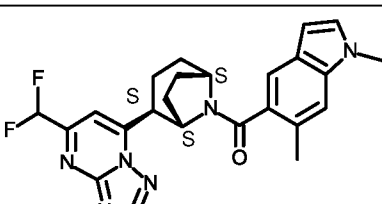
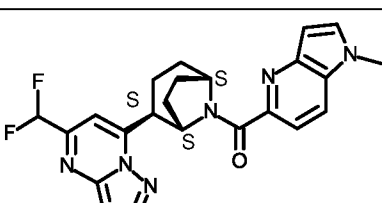
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
371		I-25a	34
372		I-25a	37
373		I-25a	63
374		I-25a	53
375		I-25a	71
376		I-25a	57
377		I-25	41

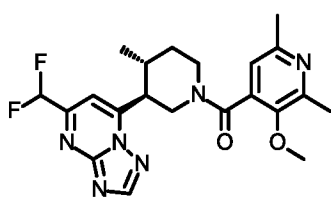
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
378		I-25	58
379		I-25a	63
380		I-25a	68
381		I-25a	59
382		I-25a	54
383		I-25a	55
384		I-25a	22

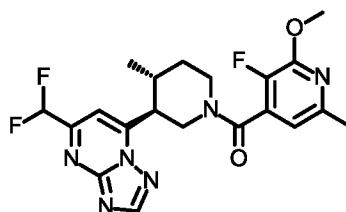
Таблиця 1

№ спол.	Структура	Одержана з	Вихід (%)
385		I-25a	72
403		I-25a	57,7
404		I-25a	67
405		I-25	68,7
406		I-25	71,5

ПЕРЕТВОРЕННЯ ТА СИНТЕЗ КІНЦЕВИХ СПОЛУК ЗА ДОПОМОГОЮ ІНШИХ ШЛЯХІВ
Сполука 386 і сполука 282/387



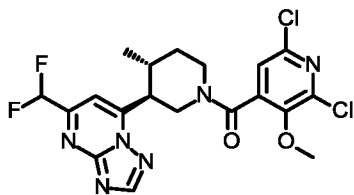
Спол. № 386



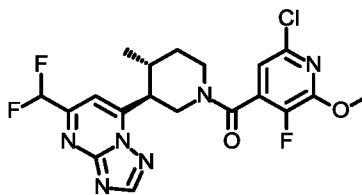
Спол. № 387/282

5

Стадія 1. Сполука 388 і сполука 389



Спол. № 388



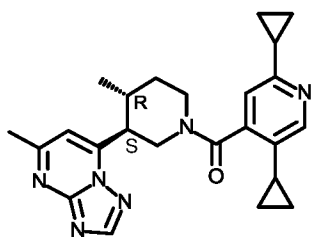
Спол. № 389

Додавали NaOMe (10,5 мл, 56,7 ммоль, 30% в MeOH) до розчину сполуки 71 (654 мг, 1,42 ммоль) в MeOH (13 мл) й одержану суміш перемішували за 0°C протягом 1 год. Реак. сум. гасили насиченим водним розчином NH₄Cl. Леткі речовини видаляли під вакуумом і водний залишок, що залишився, розділяли за допомогою DCM. Водний шар екстрагували за допомогою DCM (2x10 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали in vacuo з одержанням суміші сполук 388 і 389 у вигляді білої піни (656 мг), яку застосовували як таку на наступній стадії

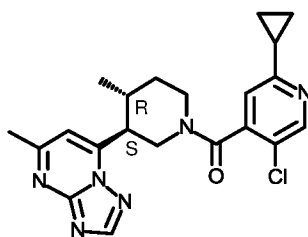
Стадія 2. Сполука 386 і сполука 282/387

Суміш із попередньої стадії розчиняли в 1,4-діоксані (10 мл) й одержаний розчин поміщали в пробірку для проведення реакцій із обробкою мікрохвильовим випромінюванням і дегазували протягом 5 хвилин. Потім додавали K₂CO₃ (668 мг, 4,83 ммоль) з наступним додаванням триметилбороксину (0,789 мл, 2,76 ммоль, 3,5 М в THF) і Pd(PPh₃)₄ (159,5 мг, 0,14 ммоль). Потім реакційну суміш нагрівали за 100°C протягом 2,5 год. під дією мікрохвильового випромінювання. Додавали додаткову кількість триметилбороксину (0,394 мл, 1,38 ммоль, 3,5 М в THF) та реакційну суміш нагрівали за 100°C під дією мікрохвильового випромінювання протягом ще години. Розчинник випарювали in vacuo й одержаний залишок розчиняли в суміші DCM/вода 1:1 (40 мл). Двофазну суміш розділяли та водну фазу екстрагували за допомогою DCM (2x10 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Одержаний залишок (843 мг) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 97/3. Збирали фракції, що відповідають вказаним у заголовку сполукам. Одну фракцію перекристалізовували з DIPE з одержанням сполуки 282/387 (146 мг, 24%). Другу фракцію очищували за допомогою препаративної HPLC із застосуванням як нерухомої фази: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30 x 150 мм і як рухомої фази: 0,25% розчин NH₄HCO₃ у воді, CH₃CN з одержанням сполуки 386 у вигляді білої твердої речовини (82 мг, 13,8%).

Сполука 390 і сполука 391



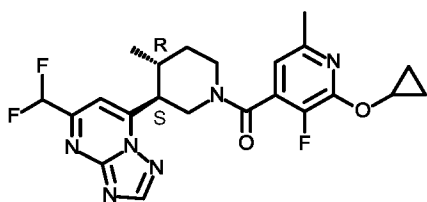
Спол. № 390



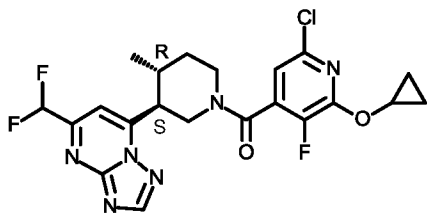
Спол. № 391

У пробірку для проведення реакцій під тиском завантажували сполуку 271 (150 мг, 0,37 ммоль), циклопропілборонову кислоту (127,2 мг, 1,48 ммоль) і толуол (3,0 мл) й одержане дегазували протягом 15 хв. перед послідовним додаванням ацетату паладію(II) (4,1 мг, 0,0185 ммоль), трициклогексилфосфіну (10,4 мг, 0,037 ммоль), дистильованої води (0,734 мл, 40,65 ммоль) і триосновного фосфату калію (235,7 мг, 1,11 ммоль). Пробірку закривали й одержану в результаті реак. сум. поміщали на масляну баню за 100 °C і перемішували протягом 16 год. Одержаний розчин охолоджували до к. т. і фільтрували через подушку з Celite®, яку промивали толуолом та EtOAc. Фільтрат випарювали до сухого стану за зниженого тиску. Одержаний залишок розчиняли в EtOAc і промивали водою та сольовим розчином, потім висушували над MgSO₄, фільтрували та випарювали in vacuo. Одержаний залишок (155 мг) очищували за допомогою препаративної HPLC із застосуванням як нерухомої фази: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30 x 150 мм і як рухомої фази: 0,5% розчин NH₄Ac у воді + 10% CH₃CN, MeOH, з одержанням сполуки 390 (18 мг, 11,7%) і сполуки 391 (66 мг, 43,4%) після розтирання з гептаном.

Сполука 392



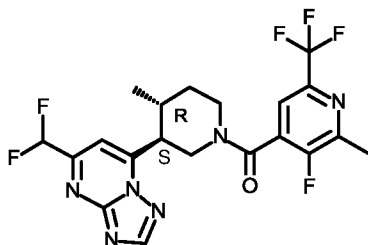
5 Стадія 1. Сполука 393



Фторид цезію (577 мг, 3,8 ммоль) додавали до розчину сполуки 71 (436 мг, 0,95 ммоль) в DMF (7,35 мл) і одержану суміш перемішували та дегазували протягом 15 хвилин. Додавали циклопропанол (0,072 мл, 1,14 ммоль) та реак. сум. нагрівали за 110°C протягом 2 год. під дією мікрохвильового випромінювання. Розчинник видаляли in vacuo, потім одержаний залишок розчиняли в суміші DCM/вода 1:1 (20 мл). Одержану двофазну суміш розділяли, потім водний шар екстрагували за допомогою DCM (2x10 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 99/1, з одержанням сполуки 393 (308 мг) у вигляді речовини з домішками, яку застосовували як таку на наступній стадії.

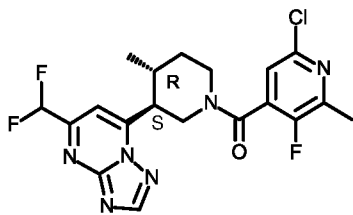
Стадія 2. Сполука 392. Розчин сполуки 393 (308 мг, 0,64 ммоль) в 1,4-діоксані (4,6 мл) дегазували протягом 15 хвилин, потім послідовно додавали K₂CO₃ (310 мг, 2,24 ммоль), триметилбороксин (0,550 мл, 1,92 ммоль, 3,5 М в THF) і Pd(PPh₃)₄ (74,015 мг, 0,064 ммоль) й одержану суміш нагрівали за 100°C протягом 2,5 год. в пробірці для проведення реакцій під тиском. Розчинник видаляли in vacuo й одержаний залишок розділяли між DCM (10 мл) і водою (10 мл). Одержану двофазну суміш розділяли і водний шар екстрагували за допомогою DCM (3 x 10 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок (340 мг) очищували за допомогою препаративної HPLC із застосуванням як нерухомої фази: RP Vydac® Denali® C18 - 10 мкм, 200 г, I.D 5 см і як рухомої фази: MeOH, з одержанням сполуки 392 (55 мг, 18,6%) у вигляді білих кристалів після перекристалізації з DIPE.

30 Сполука 394



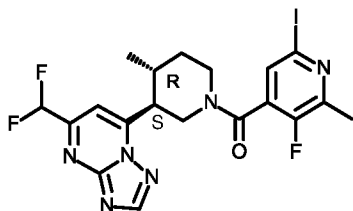
Стадія 1. Сполука 395

35



Послідовно додавали EDCI (993 мг, 5,2 ммоль) і 6-хлор-3-фтор-2-метилізонікотинову кислоту (проміжна сполука 50, 492 мг, 2,6 ммоль) до перемішаної суспензії проміжної сполуки 9-b (750 мг, 2,47 ммоль) в DCM (20 мл). Потім до суміші додавали DIPEA (1,78 мл, 10,4 ммоль) й одержаний жовтий розчин перемішували за к. т. протягом 5 год. Реак. сум. гасили водним розчином NaOH (20 мл, 1 М). Водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x10 мл) й об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та концентрували in vacuo. Одержаний залишок (1,5 г) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 99/1, з одержанням сполуки 395 (720 мг, 62%) у вигляді білої піни.

Стадія 2. Проміжна сполука 56

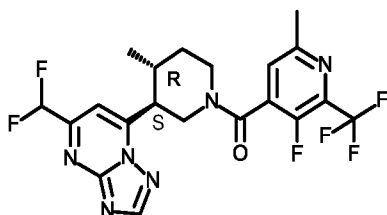


Додавали йодтриметилсилан (0,065 мл, 0,46 ммоль) до розчину сполуки 395 (200 мг, 0,46 ммоль) у пропіонітрилі (0,8 мл), в атмосфері азоту. Потім додавали йодид натрію (205 мг, 1,37 ммоль) й одержаний розчин нагрівали до 80°C. Через 5 год. результати аналізу LCMS показали лише 15% перетворення, відповідно додавали ще одну порцію йодтриметилсилану (0,065 мл, 0,456 ммоль) і реак. сум. перемішували за 80°C протягом 22 год. Після цього додавали ще одну порцію йодтриметилсилану (0,065 мл, 0,456 ммоль) та йодиду натрію (205 мг, 1,37 ммоль) і реак. сум. перемішували протягом 12 год. Розчинник видаляли in vacuo, потім одержаний залишок розділяли між водою і DCM. Одержану двофазну суміш розділяли і водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x20 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та розчинник видаляли in vacuo. Одержаний залишок (1,5 г) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 97,5/2,5, з одержанням проміжної сполуки 56 (162 мг) у вигляді речовини з домішками, яку застосовували як таку на наступній стадії.

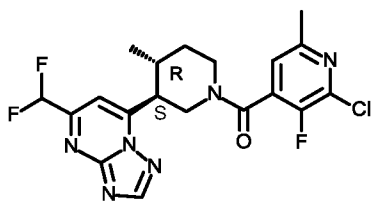
Стадія 3. Сполука 394.

Метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфоніл)ацетат (0,192 мл, 1,51 ммоль) додавали до суміші проміжної сполуки 56 (160 мг, 0,3 ммоль) та йодиду міді (75 мг, 0,39 ммоль) в безводному DMF (0,958 мл) в пробірці для проведення реакцій під тиском. Одержану суміш нагрівали до 80°C протягом 2 год. на масляній бані. Реак. сум. охолоджували до к. т., потім гасили насиченим водним розчином NH₄Cl. Одержану суміш екстрагували за допомогою EtOAc (3x15 мл). Об'єднані органічні шари висушували над MgSO₄, фільтрували та розчинник видаляли in vacuo. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії із застосуванням як елюента градієнта гептан/EtOAc, від 100/0 до 60/40 з одержанням сполуки 394 (17,5 мг, 12%).

Сполука 396



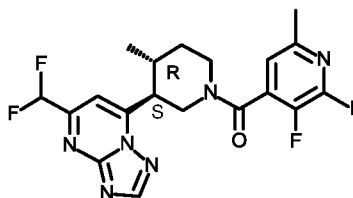
Стадія 1. Сполука 397



5

Додавали EDCI (934 мг, 4,87 ммоль) і 2-хлор-3-фтор-6-метилізонікотинову кислоту (485 мг, 2,56 ммоль) до перемішаної суспензії проміжної сполуки 9-b (740,1 мг, 2,44 ммоль) в DCM (18,5 мл). Додавали DIPEA (1,68 мл, 9,74 ммоль) і реак. сум. перемішували протягом 2 год. за к. т. Реак. сум. гасили водним розчином NaOH (30 мл, 1 М). Водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x15 мл) і об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та концентрували in vacuo. Одержаний залишок (1,5 г) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 99/1, з одержанням сполуки 397 (854 мг, 80%) у вигляді білого порошку.

Стадія 2. Проміжна сполука 57

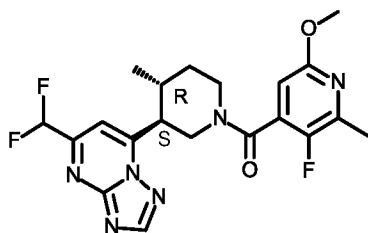


15

Додавали йодтриметилсилан (0,26 мл, 1,82 ммоль) до розчину сполуки 397 (400 мг, 0,91 ммоль) у пропіонітрилі (1,6 мл), в атмосфері азоту. Потім додавали йодид натрію (410 мг, 2,73 ммоль) й одержаний розчин нагрівали до 80°C протягом 1,5 год. Розчинник видаляли in vacuo, потім одержаний залишок розділяли між водою та EtOAc. Одержану двофазну суміш розділяли і водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (3 x 20 мл). Об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 97,5/2,5 з одержанням проміжної сполуки 57 (197 мг) у вигляді речовини з домішками, яку застосовували як таку на наступній стадії.

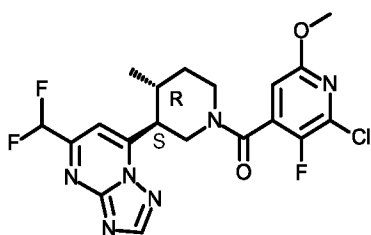
Стадія 3. Сполука 396. Додавали йодид міді (92 мг, 0,48 ммоль) до розчину проміжної сполуки 57 (197 мг, 0,37 ммоль) в безводному DMF (1,18 мл) й одержану суміш дегазували за допомогою азоту протягом 10 хвилин. Потім додавали метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфоніл)ацетат (0,236 мл, 1,86 ммоль) і реак. сум. перемішували та нагрівали за 80°C протягом 2 год., після чого її залишали для охолодження до к. т. протягом ночі. Реак. сум. гасили насиченим водним розчином NH_4Cl . Одержану суміш екстрагували за допомогою EtOAc (6x20 мл). Об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та розчинник видаляли in vacuo. Одержаний залишок (550 мг) очищували за допомогою препаративної HPLC із застосуванням як нерухомої фази: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 50 x 150 мм і як рухомої фази: CH_3CN , з одержанням сполуки 396 (7,4 мг, 4%).

Сполука 398



40

Стадія 1. Сполука 399

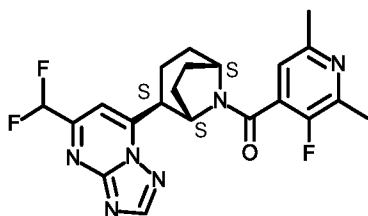


5 Додавали EDCI (320,5 мг, 1,67 ммоль) з наступним додаванням DIPEA (0,57 мл, 3,34 ммоль) до перемішаного розчину проміжної сполуки 9-b (242 мг, 0,8 ммоль) і 2-хлор-3-фтор-6-метоксиізонікотинової кислоти (проміжна сполука 53, 172 мг, 0,84 ммоль) в DCM (6,35 мл). Реак. сум. перемішували за к. т. протягом ночі. Додавали ще одну порцію EDCI (80 мг, 0,417 ммоль) і DIPEA (0,1 мл, 0,75 г/мл, 0,58 ммоль) і реак. сум. перемішували протягом 12 год., потім її гасили водним розчином NaOH (20 мл, 1 М). Водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x20 мл) і об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та концентрували in vacuo. Одержаний залишок (600 мг) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 98,5/1,5, з одержанням сполуки 399 (136 мг, 80%) у вигляді білої піни.

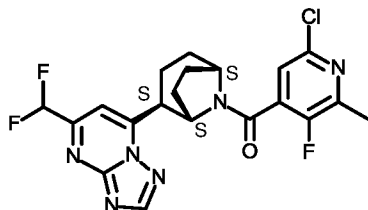
Стадія 2. Сполука 398

15 Розчин сполуки 399 (136 мг, 0,299 ммоль) в 1,4-діоксані (2,17 мл) дегазували протягом 15 хвилин в пробірці для проведення реакцій під тиском. Послідовно додавали K_2CO_3 (144,6 мг, 1,05 ммоль), триметилбороксин (0,256 мл, 0,897 ммоль, 3,5 М в THF) і $Pd(PPh_3)_4$ (34,5 мг, 0,03 ммоль) й одержану суміш нагрівали за 100°C протягом 2 год. Розчинник видаляли in vacuo й одержаний залишок розділяли між DCM і водою. Одержану двофазну суміш розділяли і водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x15 мл). Об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок (220 мг) очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 96/4, з одержанням сполуки 398 (88 мг, 68%).

Сполука 400



Стадія 1. Сполука 401

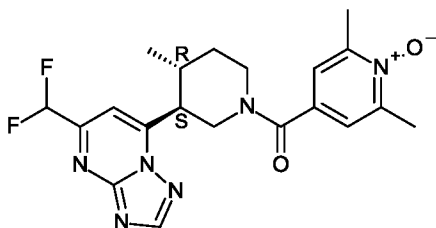


35 Додавали DIPEA (0,65 мл, 3,77 ммоль) і HBTU (300 мг, 0,79 ммоль) до розчину 6-хлор-3-фтор-2-метилізонікотинової кислоти (проміжна сполука 50, 150 мг, 0,79 ммоль) в DCM (30 мл). Потім додавали проміжну сполуку 25-а (238 мг, 0,75 ммоль) і реак. сум. перемішували протягом ~1,5 год. за к. т. Реак. сум. гасили водним розчином NaOH (1 мл, 1 М), а потім фільтрували через фільтр Extrelute®. Розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 98/2, з одержанням сполуки 401 (320,5 мг, 83%) у вигляді безбарвного масла.

Стадія 2. Сполука 400

Розчин сполуки 401 (320 мг, 0,71 ммоль) в 1,4-діоксані (5,1 мл) дегазували протягом 15 хвилин. Послідовно додавали K_2CO_3 (343,3 мг, 2,45 ммоль), триметилбороксин (0,608 мл, 2,129 ммоль, 3,5 М в THF) і $Pd(PPh_3)_4$ (82,0 мг, 0,071 ммоль) й одержану суміш нагрівали за 100°C протягом 2 год. у пробірці для проведення реакцій під тиском. Розчинник видаляли in vacuo й одержаний залишок розділяли між DCM (20 мл) і водою (20 мл). Двофазну суміш розділяли і водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x15 мл). Об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та розчинник видаляли за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 95/5. Це забезпечувало одержання суміші ендо/екзо-ізомерів (230 мг), яку розділяли за допомогою препаративної HPLC із застосуванням як нерухомої фази: RP XBridge® Prep C18 OBD-10 мкм, 50x150 мм і як рухомої фази: MeOH. Фракції, що містять продукт, випарювали й одержаний залишок перекристалізовували з Et_2O з одержанням сполуки 400 (57 мг, 18,6%)

Сполука 402



Додавали mCPBA (307,825 мг, 1,25 ммоль) до розчину сполуки 1 з WO2017/076900 (250 мг, 0,624 ммоль) в DCM (1,6 мл) за 10°C й одержану суміш перемішували в Easymax® протягом 3 днів. Після цього реакт. сум. гасили насиченим водним розчином $NaHCO_3$ (1,5 мл). Двофазну суміш розділяли та водний шар екстрагували за допомогою DCM (3x5 мл). Об'єднані органічні шари висушували над $MgSO_4$, фільтрували та концентрували in vacuo. Одержаний залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі із застосуванням як елюента градієнта DCM/MeOH, від 100/0 до 96/4, з одержанням сполуки 402 (250 мг, 96%) у вигляді білого порошку.

АНАЛІТИЧНА ЧАСТИНА

Значення температури плавлення

Значення являють собою або максимальні значення, або діапазони значень температури плавлення, і їх одержують із експериментальними похибками, які зазвичай пов'язані з цим аналітичним способом.

Температуру плавлення визначали за допомогою DSC823e (Mettler-Toledo). Температуру плавлення вимірювали за температурного градієнту 10 °C/хв. Максимальна температура становила 300 °C.

Таблиця 2

№ спол.	MP (°C)		№ спол.	MP (°C)
22	217,82		206	145,73
23	169,13		207	173,79
25a	240,33		209	145,19
25b	239,55		210	195,81
29	176,52		211	117,50
31	190,16		213	169,70
40	181,11		214	203,97
49	263,81		220	155,37
52	228,39		221	122,37
69	209,73		224	153,14
72	177,60		225	178,64
77	177,37		228	178,21
79	227,10		270	213,25
93	201,12		271	247,40
102	215,44		281	114,59

Таблиця 2

№ спол.	MP (°C)		№ спол.	MP (°C)
106	273,02		282/387	193,33
108	151,39		295	178,8
111	188,75		336	255,11
116	192,09		310	240,9
118	179,82		321	137,5
120	173,99		322	180,27
122	160,20		324	204,06
123	203,87		325	226,36
126	114,32		327	194,86
127	139,13		328	247,48
129	140,78		329	227,79
130	193,85		331	193,87
131	224,39		332	183,18
132	116,57		333	291,55
133	152,33		334	239,87
137	229,91		336	255,11
189	152,03		355	146,08
191	162,07		356	187,93
192	110,16		360	264,8
194	167,52		363	221,75
201	140,14		353	230,66
202	78,65		375	171,51
203	204,03		376	175,71
204	205,47		377	183,67
			385	220,89

Способи LC/MS

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

10 Потік із колонки спрямовували до мас-спектрометра (MS), який був оснащений джерелом іонізації за атмосферного тиску. У компетенції фахівця в даній галузі є налаштування регульованих параметрів (наприклад, діапазону сканування, часу витримки тощо) з метою одержання іонів, які забезпечують визначення номінальної моноізотопної молекулярної маси (MW) сполуки. Збір і обробку даних виконували за допомогою відповідного програмного забезпечення. Сполуки описували за допомогою їхніх значень експериментального часу утримування (R_t) та іонів. Якщо не вказано інше, то в таблиці даних вказаний молекулярний іон відповідає $[M+H]^+$ (протонована молекула) та/або $[M-H]^-$ (депротонована молекула). У випадку, якщо сполука не була безпосередньо здатна до іонізації, вказують тип аддукту (тобто $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ тощо). Для молекул зі складними ізотопними розподілами (Br, Cl тощо) описаним значенням є значення, одержане для найменшої маси ізотопу. Усі результати одержували з експериментальними похибками, які зазвичай пов'язані із застосовуваним способом.

20 Далі в даному документі "SQD" означає одиничний квадрупольний детектор, "MSD" означає мас-селективний детектор, "RT" означає кімнатну температуру, "BEH" означає містковий гібрид етилсилоксану/діоксиду кремнію, "DAD" означає детектор на діодній матриці, "HSS" означає діоксид кремнію підвищеної міцності.

Таблиця 3а

Коди способів LCMS (швидкість потоку виражена в мл/хв.;
температура колонки (Т) в °С; час аналізу у хвиликах)

Код способу	Прилад	Колонка	Рухома фаза	Градiєнт	Швидкість потоку ----- Т колонки	Час аналізу (хв.)
A	Waters: Acquity® UPLC® - DAD/SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95 % H ₂ O+5 % CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Від 95 % А до 5 % А за 1,3 хв., утримування протягом 0,7 хв.	0,8 ----- 55	2
B	Waters: Acquity® UPLC® - DAD та SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	A: 25 mM CH ₃ COONH ₄ в 95 % H ₂ O+5 % CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Від 95 % А до 5 % А за 1,3 хв., утримування протягом 0,7 хв.	0,8 ----- 55	2
C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD та SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1*100 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95 % H ₂ O+5 % CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Від 100 % А до 5 % А за 2,10 хв, до 0 % А за 0,90 хв, до 5 % А за 0,5 хв.	0,7 ----- 55	3,5
D	Waters: Alliance®-DAD – ZQ та ELSD 2000 Alltech	Колонка Xterra MS C18 (3,5 мкм, 4,6 × 100 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95 % H ₂ O+5 % CH ₃ CN B: CH ₃ CN C: CH ₃ OH D: (40 % CH ₃ CN, і 40 % CH ₃ OH, і 20 % H ₂ O з 0,25 % CH ₃ COOH	Від 100 % А до 1 % А, 49 % В і 50 % С за 6,5 хв., до 1 % А і 99 % В за 0,5 хв., до 100 % D за 1 хв. з утримуванням протягом 1,0 хв. до 100 % А за 0,5 хв. і утримуванням протягом 1,5 хв.	1,6 ----- 40	11
E	Waters: Acquity® UPLC® -DAD-ELSD та SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	A: 0,1 % HCOOH+5 % CH ₃ OH в H ₂ O B: CH ₃ CN	Від 95 % А до 0 % А за 2,50 хв., до 5 % А за 0,5 хв.	0,7 ----- 55	3

Таблиця 3б

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), [M+H]⁺ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R _t (хв.)	[M+H] ⁺	[M+H] ⁻	Спосіб
1a	1,33	365	363	С
1b	1,33	365	363	С
2a	1,38	393	391	С
2b	1,38	393	391	С
3a	1,43	365	363	С
3b	1,43	365	363	С
4	0,82	419	417	А
5	0,87	390	388	А
6	0,8	376	374	А

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
7	0,94	390	388	A
8	0,87	376	374	A
9	0,96	382	380	A
10	0,99	443	441	A
11	0,76	389	387	A
12	0,84	425	423	A
13	0,7	456	514 $[M+CH_3COO]^-$	A
14	0,66	339	337	A
15	0,69	371	369	A
16	0,85	370	428	A
17	0,82	405	403	A
18	0,72	385	383	A
19	0,68	391	389	A
20	0,84	444	442	A
21	0,82	377	375	A
22	0,84	401	459 $[M+CH_3COO]^-$	A
23	1,57	391	389	C
24a	1,85	445	503 $[M+CH_3COO]^-$	C
24b	1,86	445	443	C
25a	1,54	441	439	C
25b	1,55	441	439	C
26a	1,46	376	374	C
26b	1,46	376	374	C
27	1,65	421	419	C
28	1,73	439	437	C
29	0,72	413	411	A
30	0,72	413	411	A
31	0,72	413	411	A
32	0,74	401	399	A
33	1,66	447	445	C
34	1,66	447	445	C
35	1,59	492	490	C
36	0,85	421	419	A
37	1,68	435	433	C
38	1,36	419	417	C
39	1,84	475	473	C
40	0,69	412	410	A
41	0,85	455	453	A
42	1,6	407	405	C
43	0,9	441	439	A
44	0,96	443	441	A
45	0,98	443	441	A
46	0,98	443	441	A
47	1,79	413	411	C
48	1,03	426	424	A
49	0,88	401	399	A
50	1,58	427	425	C
51	0,81	421	419	A
52	0,9	455	453	A

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
53	0,82	417	415	A
54	0,87	425	423	A
55	1,7	425	423	C
56	1,64	434	432	C
57	1,45	376	374	C
58	1,31	376	374	C
59	1,8	480	478	C
60	1,74	451	449	C
61	0,74	404	402	A
62	1,50	417	415	C
63	1,88	452	450	C
64	1,8	441	439	C
65	1,84	406	404	C
66	1,53	403	401	C
67	1,53	375	373	C
68	0,78	405	403	A
69	0,96	412	410	A
70	0,81	419	417	A
71	0,99	459	457	A
72	2,02	446	444	C
73	0,95	443	441	A
74	1,97	448	446	C
75	1,97	448	506 $[M+CH_3COO]^-$	C
76	1,1	434	432	A
77	0,97	430	428	A
78	0,94	425	423	A
79	0,82	432	430	A
80	1,6	415	413	C
81	1,57	419	417	C
82	1,58	419	417	C
83	0,9	421	419	A
84	0,78	405	403	A
85	1,63	401	399	C
86	1,5	417	415	C
87	0,68	363	361	A
88	0,71	444	442	A
89	0,91	457	455	A
90	0,9	411	409	A
91	1,05	478	476	A
92	1,85	426	424	C
93	1,77	427	425	C
94	1,99	479	477	C
95	1,37	405	403	C
96	1,77	428	426	C
97	0,88	412	470 $[M+CH_3COO]^-$	A
98	1,7	442	440	C
99	1,2	376	374	C
100	1,72	443	441	C
101	0,99	429	427	A
102	1,01	420	418	A

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
103	1,03	430	428	A
104	1,52	413	411	C
105	1,86	442	440	C
106	1,67	411	409	C
107	1,04	445	443	A
108	0,95	437	435	A
109	1,9	398	396	C
110	0,86	417	415	A
111	1,04	440	438	A
112	1,67	429	427	C
113	1,03	443	441	A
114	1	425	423	A
115	1,02	418	416	A
116	0,76	413	411	A
117	1,79	382	380	C
118	1,01	442	440	A
119	1,96	442	440	C
120	1,78	431	429	C
121	1	472	470	A
122	2	445	443	C
123	1	400	398	A
124	0,78	415	413	A
125	1,78	453	451	C
126	0,95	392	390	A
127	1,61	427	425	C
128	1,8	438	436	C
129	1,95	438	436	C
130	0,94	436	434	A
131	0,88	411	409	A
132	0,93	455	453	A
133	0,93	468	466	A
134	1,78	437	435	C
135	1,03	430	428	A
136	1,99	418	416	C
137	0,93	401	399	A
138	0,88	416	474 $[M+CH_3COO]^-$	A
139	1,43	376	374	C
140	1,98	438	436	C
141	0,81	402	400	A
142	1,32	388	386	C
143	0,77	401		A
144	1,94	472	470	C
145	0,89	430	428	A
146	1,32	439	437	C
147	1,88	426	424	C
148	1,89	458	456	C
149	1,72	408	406	C
150	1,38	388	386	C
151	1,41	438	436	C
152	1,56	377	375	C
153	1,70	451	449	C

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
154	1,67	407	405	C
155	1,47	391	389	C
156	1,46	377	375	C
157	1,60	377	375	C
158	1,33	394	392	C
159	1,65	421	419	C
160	1,57	377	375	C
161	1,76	445	443	C
162	1,36	388	386	C
163	1,52	398	396	C
164	1,32	376	374	C
165	2,04	459	456	C
166	1,43	404	402	C
167	1,73	441	439	C
168	0,75	406	404	A
169	1,98	474	472	C
170	1,83	461	459	C
171	1,96	459	457	C
172	1,86	455	453	C
173	1,35	423	421	C
174	1,58	417	415	C
175	1,77	439	437	C
176	1,52	413	411	C
177	1,36	376	374	C
178	1,45	426	424	C
179	1,46	416	414	C
180	1,88	412	410	C
181	1,32	388	386	C
182	1,73	459	457	C
183	1,54	413	411	C
184	1,50	377	375	C
185	0,83	423	421	A
186	0,76	406	404	A
187	1,79	413	411	C
188	1,62	427	425	C
189	1,00	422	420	A
190	0,87	415	413	A
191	0,93	440	438	A
192	0,96	456	454	A
193	0,96	456	454	A
194	1,93	458	456	C
195	0,88	420	418	A
196	0,81	403	401	A
197	0,86	397	395	A
198	0,69	390	388	A
199	0,66	405	405	B
200	0,88	457		A
201	0,92	412	470 $[M+CH_3COO]^-$	A
202	0,76	362		A
203	0,76	455	455	A
204	0,76	455		A

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
205	0,89	412		A
206	1,00	400		A
207	0,65	390	448 $[M+CH_3COO]^-$	A
208	0,93	392		A
209	0,91	412		A
210	0,75	401		A
211	0,75	401		A
212	0,69	412		A
213	0,91	392	390	A
214	0,99	400	398	A
215	0,92	457		A
216	1,20	376	374	C
217	1,79	382	380	C
218	1,90	398	396	C
219	0,94	443	441	A
220 (.HCl)	0,78	401		A
221	0,89	412	410	A
222	0,90	405	403	A
223	0,94	405	403	A
224	0,79	395	393	A
225	1,52	385	383	C
226	1,11	452	450	A
227	1,60	429	427	C
228	0,92	429	427	A
229	0,87	387	385	A
230	1,37	405	403	C
231	0,64	413	411	A
232	1,46	388	386	C
233	1,37	388	386	C
234	1,51	398	396	C
235	1,53	407	405	C
236	1,25	390	388	C
237	1,54	408	406	C
238	1,62	432	430	C
239	1,63	441	439	C
240	1,38	362	360	C
241	1,93	474	472	C
242	1,85	475	473	C
243	1,49	363	361	C
244	1,36	388	386	C
245	1,81	426	424	C
246	1,65	431	429	C
247	1,90	470	468	C
248	1,28	374	372	C
249	1,32	374	372	C
250	1,53	391	389	C
251	1,55	391	389	C
252	1,57	391	389	C
253	1,65	441	439	C
254	1,53	391	389	C

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
255	1,51	406	404	C
256	1,34	374	372	C
257	1,38	374	372	C
258	1,93	419	417	C
259	2,35	484	482	C
260	1,51	377	375	C
261	1,36	389	387	C
262	1,51	391	389	C
263	1,78	455	453	C
264	1,54	407	405	C
265	1,65	427	425	C
266	2,41	485	483	C
267	0,91	456	454	A
268	1,67	441	439	C
269	0,90	431	429	A
270	0,85	439	437	A
271	0,78	405	403	A
272	0,73	417	415	A
273	1,98	438	436	C
274	1,73	439	437	C
275	1,73	417	415	C
276	1,06	461	459	A
277	0,97	449	507 $[M+CH_3COO]^-$	A
278	1,01	445	443	A
279	0,97	445	443	A
280	1,16	483	481	A
281	1,89	453	451	C
282/387	0,93	435	433	A
283	1,75	445	443	C
284	5,27	433	431	A
285	1,76	467	465	C
286	1,76	467	465	C
287	1,79	453	451	C
288	0,78	431	429	A
289	1,01	425	423	A
290	0,87	429	427	A
291	0,92	423	421	A
292	1,83	442 442	440	C
293	0,95	465	463	A
294	0,82	449	447	A
295	0,9	437	435	A
296	0,94	468	466	A
297	0,91	437	435	A
298	0,86	463	461	A
299	0,92	437	435	A
300	0,98	437	435	A
301	0,89	445	443	A
302	0,98	412	410	A
303	0,79	439	437	A
304	0,92	425	423	A
305	0,76	439	437	A

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
306	0,79	439	437	A
307	0,99	437	435	A
308	0,87	435	433	A
309	0,81	453	451	A
310	0,87	469	467	A
311	0,75	435	433	A
312	0,82	453	431	A
313	0,8	435	433	A
314	0,75	435	433	A
315	0,76	435	433	A
316	1,08	435	-	E
317	0,76	435	433	A
318	1,15	435	-	E
319	0,97	434	432	A
320	0,94	434	432	A
321	0,88	437	435	A
322	0,75	423	421	A
323	0,87	423	421	A
324	0,81	423	481 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
325	0,82	441	439	A
326	0,75	423	421	A
327	0,9	425	423	A
328	0,91	425	483 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
329	0,88	457	515 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
331	0,98	422	480 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
332	0,83	441	499 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
333	1,01	452	450	A
334	1,03	440	438	A
335	1,7	458	456	C
336	0,93	448	446	A
337	0,9	420	418	A
338	1,00	470	468	A
339	0,99	432	430	A
340	0,98	452	450	A
341	0,9	420	418	A
342	1,02	486	484	A
343	1,72	432	430	C
344	1,87	434	432	C
345	1,8	935 [2M+1]	466	C
346	1	430	428	A
347	0,9	404	402	A
348	1,04	430	428	A
349	0,91	404	402	A
350	0,98	464	462	A
351	0,97	424	422	A
352	1,02	490	488	A

Таблиця 3b

Дані аналізу LCMS – R_t означає час утримування (у хвиликах), $[M+H]^+$ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, застосовуваного для аналізу (LC)MS

№ спол.	R_t (хв.)	$[M+H]^+$	$[M+H]^-$	Спосіб
353	1,74	424	422	C
354	0,83	388	386	A
355	1,96	465	463	C
356	1,01	452	450	A
357	1,91	470	468	
358	1,83	418	416	C
359	1,81	450	448	C
360	0,74	430	428	A
361	0,68	417	415	A
362	1,79	427	425	C
363	1,84	451	449	C
364	0,8	444	442	A
365	1,64	413	411	C
366	0,75	413	411	A
367	0,7	416	414	A
368	0,82	455	453	A
369	1	432	430	A
370	0,97	442	440	A
371	0,96	424	422	A
372	0,94	440	438	A
373	1,8	451	449	C
374	0,94	455	453	A
375	1,01	432	430	A
376	0,92	448	446	A
377	0,95	436	434	A
378	0,88	455	453	A
379	0,7	438	436	A
380	0,78	438	436	A
381	0,71	436	434	A
382	0,74	438	436	A
383	0,85	450	448	A
384	0,88	457	455	A
385	0,9	455	453	A
386	1,55	431	429	C
282/387	0,93	435	433	A
390	0,99	417	415	E
391	1,25	411	409	E
392	1,01	461	459	A
394	1,01	473	471	A
396	1,88	473	471	C
398	0,99	435	433	A
400	0,78	431	429	A
402	0,62	417	415	A
403	0,9	455	453	A
404	0,93	451	449	A
405	0,91	451	449	A
406	0,75	438	436	A

Способи SFC-MS

Вимірювання під час SFC проводили із застосуванням аналітичної системи надкритичної рідинної хроматографії (SFC), укомплектованої насосом для двокомпонентних сумішей для доставки діоксиду вуглецю (CO_2) та модифікатором, автоматичним дозатором, термостатом для

5

колонок, детектором на діодній матриці, оснащеним проточною кюветою для роботи під високим тиском, що витримує значення до 400 бар. За умови оснащення мас-спектрометром (MS) потік із колонки спрямовували до (MS). У компетенції фахівця в даній галузі є налаштування регульованих параметрів (наприклад, діапазону сканування, часу витримки тощо) з метою одержання іонів, які забезпечують визначення номінальної моноізотопної молекулярної маси (MW) сполуки. Збір і обробку даних виконували за допомогою відповідного програмного забезпечення.

Таблица 4а

Аналітичні способи SFC-MS (швидкість потоку виражена у мл/хв.; температура колонки (Т) у °С; протитиск (BPR) у барах).

Код способу	Колонка	Рухома фаза	Гradient	Швидкість потоку ----- Т колонки	Час аналізу ----- BPR
1	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	40 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
2	Колонка Daicel Chiralpak® AD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	10 % - 50 % B за 6 хв., утримування 3,5 хв.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
3	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: (EtOH-iPrOH)+0,2 % iPrNH ₂	35 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
4	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2 % iPrNH ₂	25 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
5	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2 % iPrNH ₂	30 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
6	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250 × 4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2 % iPrNH ₂	40 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
7	Колонка Daicel Chiralpak® AD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2 % iPrNH ₂	10 % - 50 % B за 6 хв., утримування 3,5 хв.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
8	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250 × 4,6 мм)	A: CO ₂ B: (MeOH-iPrOH)+0,2 % iPrNH ₂	25 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
9	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: (MeOH-iPrOH)+0,2 % iPrNH ₂	30 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
10	Колонка Daicel (AD, OD, OJ, AS,)-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: 3 різних розчинники, що використовуються для B: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2 % iPrNH ₂	10 % - 40 % B за 19,4 хв., 40-50 % за 2,00 хв., утримування 3,6 хв.	3 ----- 30	25 ----- 110

Таблиця 4а

Аналітичні способи SFC-MS (швидкість потоку виражена у мл/хв.; температура колонки (Т) у °С; протитиск (BPR) у барах).

Код способу	Колонка	Рухома фаза	Градiєнт	Швидкість потоку ----- Т колонки	Час аналізу ----- BPR
13	Колонка Daicel AS-H (5,0 мкм, 500×4,6 мм)	A: CO ₂ B: 3 різних розчинники, що використовуються для B: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2 % iPrNH ₂	10 % - 40 % B за 19,4 хв., 40-50 % за 2,00 хв., утримування 3,6 хв.	3 ----- 50	25 ----- 110
12	Колонка Daicel AS-H (5,0 мкм, 500×4,6 мм)	A: CO ₂ B: 3 різних розчинники, що використовуються для B: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2 % iPrNH ₂	20 % B, утримування 17,5 хв., 20-50 % за 3,00 хв., утримування 4,1 хв.	3 ----- 50	25 ----- 110
13	Колонка Daicel OJ-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: 3 різних розчинники, що використовуються для B: MeOH+0,2 % iPrNH ₂	12 % B, утримування 10 хв.	3 ----- 30	10 ----- 110
14	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH+0,2 % iPrNH ₂	20 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
15	Колонка Daicel Chiralpak® OD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	30 % B, утримування 4 хв., до 50 % за 1 хв., утримування 2 хв.	5 ----- 40	7 ----- 110
16	Колонка Daicel Chiralpak® OD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	10 % - 50 % B за 6 хв., утримування 3,5 хв.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
17	Колонка Daicel Chiralpak® AD3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	10 % - 50 % B за 6 хв., утримування 3,5 хв.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 130
18	Колонка Daicel Chiralpak® IC3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2 % iPrNH ₂	10 % - 50 % B за 6 хв., утримування 3,5 хв.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 130

Таблиця 4b

Аналітичні дані SFC – R_t означає час утримування (у хвиликах), [M+H]⁺ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, що застосовується для аналізу енантіомерно чистих сполук за допомогою (SFC)MS

№ спол.	R _t (хв.)	[M+H] ⁺	Спосіб	Порядок елювання
1a	3,66	365	14	Енантіомер 2
1b	2,51	365	14	Енантіомер 1
3a	3	365	8	Енантіомер 1
3b	2,11	365	8	Енантіомер 2

Таблиця 4b

Аналітичні дані SFC – R_t означає час утримування (у хвиликах), [M+H]⁺ означає масу протонованої сполуки, спосіб стосується способу, що застосовується для аналізу енантіомерно чистих сполук за допомогою (SFC)MS

№ спол.	R _t (хв.)	[M+H] ⁺	Спосіб	Порядок елювання
24a	1,05	445	6	Енантіомер 1
24b	1,52	445	6	Енантіомер 2
25a	4,79	441	16	Енантіомер 1
25b	5,48	Відсутність відповіді	16	Енантіомер 1
28	3,95	439	2	Енантіомер 2
29	1,33	413	15	Енантіомер 2
30	2,54	413	15	Енантіомер 1
33	5,45	447	7	Енантіомер 1
34	4,85	447	7	Енантіомер 2
45	1,2	443	4	Енантіомер 2
46	1,56	443	4	Енантіомер 1
62	3,42	417	2	
73	2,47	448	5	Енантіомер 1
75	1,42	448	5	Енантіомер 2
81	2,81	419	2	Енантіомер 1
82	3,25	419	2	Енантіомер 2
86	3,09	417	2	Енантіомер 2
95	6,8	405	7	Енантіомер 2
97	5,22	412	13	Н. д.
99	3,33	376	3	Енантіомер 2
104	1,67	413	1	Енантіомер 2
109	2,54	398	1	Н. д.
116	2,12	382	9	Енантіомер 2
123	5,72	400	10	Н. д.
140	4,67	438	2	Енантіомер 2
201	8,79	412	11	Енантіомер 1
203	9,22	455	12	Енантіомер 1
204	7,53	455	12	Енантіомер 1
216	2,2	376	3	Енантіомер 1
217	1,29	382	9	Енантіомер 1
218	1,33	398	1	Енантіомер 1
230	6,35	405	7	Енантіомер 2
273	4,21	438	2	Енантіомер 2
274	4,5	439	2	
285	6,81	467	18	Діастереомер 4
286	4,95	467	18	Діастереомер 3
392	2,64	461	17	Енантіомер 1

Ядерний магнітний резонанс (ЯМР)

Спектр ¹H ЯМР записували або на спектрометрі Bruker DPX-400 зі стандартними послідовностями імпульсів, який функціонував за 400 МГц, або на Bruker DPX-360, який функціонував за 360 МГц, з використанням DMSO-d₆ (дейтерований DMSO, диметилсульфоксид-d₆) як розчинників. Значення хімічного зсуву (δ) наведені в частинах на мільйон (ppm) відносно тетраметилсилану (TMS), який використовували як внутрішній стандарт.

Спол. № 25a: ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆ при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 1,74 - 1,93 (m, 4 H) 1,97 - 2,11 (m, 3 H) 2,31 - 2,45 (m, 1 H) 4,06 - 4,23 (m, 1 H) 4,61 (br s, 1 H) 4,82 (br s, 1 H) 7,02 (t, J=54,2 Гц, 1 H) 7,50 (s, 1 H) 7,78 (dd, J=8,4, 1,8 Гц, 1 H) 8,17 (d, J=8,4 Гц, 1 H) 8,44 (br s, 1 H) 8,47 (d, J=1,1 Гц, 1 H) 9,45 (s, 1 H);

Спол. № 93: ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆ при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 0,84 (d, J=6,6 Гц, 3 H) 0,88 - 0,98 (m, 4 H) 1,45 (qd, J=12,4, 4,4 Гц, 1 H) 1,91 (br dd, J=13,4, 2,6 Гц, 1 H) 2,06 -

2,14 (m, 1 H) 2,42 (s, 3 H) 2,45 - 2,49 (m, 1 H) 3,13 (br t, J=11,6 Гц, 1 H) 3,37 (dd, J=12,9, 11,1 Гц, 1 H) 3,60 (td, J=10,9, 4,0 Гц, 1 H) 4,17 (br s, 2 H) 6,79 - 7,23 (m, 3 H) 7,57 (s, 1 H) 8,72 (s, 1 H);

Спол. № 108: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 0,77 (d, J=6,4 Гц, 3 H) 1,34 - 1,56 (m, 1 H) 1,68 - 2,00 (m, 1 H) 2,43 (br s, 1 H) 2,76 - 3,28 (m, 2 H) 3,49 - 3,74 (m, 2 H) 3,87 (s, 3 H) 4,46 - 4,76 (m, 1 H) 6,81 - 7,33 (m, 3 H) 7,65 (s, 1 H) 8,80 (s, 1 H);

Спол. № 110: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 0,83 (d, J=6,6 Гц, 3 H) 1,39 - 1,50 (m, 1 H) 1,85 - 1,95 (m, 1 H) 2,43 (s, 3 H) 2,44 - 2,48 (m, 1 H) 3,13 (br t, J=12,3 Гц, 1 H) 3,37 (dd, J=13,0, 11,2 Гц, 1 H) 3,58 (td, J=10,9, 4,0 Гц, 1 H) 3,88 (s, 3 H) 4,13 (br s, 2 H) 6,58 (s, 1 H) 6,82 (s, 1 H) 7,01 (t, J=54,2 Гц, 1 H) 7,56 (s, 1 H) 8,71 (s, 1 H);

Спол. № 132: ^1H ЯМР (360 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 0,78 (d, J=6,6 Гц, 3 H) 1,38 - 1,61 (m, 1 H) 1,67 - 2,01 (m, 1 H) 2,60 (s, 3 H) 2,86 - 3,30 (m, 2 H) 3,49 (br d, J=14,6 Гц, 1 H) 3,59 - 3,72 (m, 2 H) 4,48 - 4,79 (m, 1 H) 6,87 - 7,35 (m, 1 H) 7,54 - 7,89 (m, 3 H) 8,79 (s, 1 H);

Спол. № 228: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 0,85 (d, J=6,6 Гц, 4 H) 1,43 - 1,56 (m, 1 H) 1,86 - 1,99 (m, 1 H) 3,19 (td, J=12,9, 2,8 Гц, 1 H) 3,42 (dd, J=13,0, 11,2 Гц, 1 H) 3,64 (td, J=10,9, 4,0 Гц, 1 H) 4,15 - 4,26 (m, 1 H) 4,28 - 4,38 (m, 1 H) 7,01 (t, J=54,2 Гц, 1 H) 7,58 (br s, 1 H) 7,61 (dd, J=8,4, 1,5 Гц, 1 H) 8,11 (d, J=7,9 Гц, 1 H) 8,27 (d, J=1,3 Гц, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 9,40 (s, 1 H);

Спол. № 281: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 120 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 0,82 (d, J=6,40 Гц, 3 H) 1,46 (qd, J=12,47, 4,40 Гц, 1 H) 1,84 - 1,93 (m, 1 H) 2,41 - 2,53 (m, 1 H) 2,84 (s, 3 H) 3,07 - 3,18 (m, 1 H) 3,35 (dd, J=12,98, 11,22 Гц, 1 H) 3,58 (td, J=10,95, 3,85 Гц, 1 H) 3,88 - 4,33 (m, 2 H) 6,85 (s, 1 H) 6,98 (t, J=54,36 Гц, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,53 (s, 1 H) 7,55 (t, J=73,07 Гц, 1 H) 7,74 (s, 1 H) 8,67 (s, 1 H);

Спол. № 295: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 1,67 - 1,87 (m, 4 H) 1,89 - 2,10 (m, 3 H) 2,26 - 2,38 (m, 1 H) 3,82 (s, 3 H) 4,13 (br d, J=12,10 Гц, 1 H) 4,56 (br s, 1 H) 4,86 (br s, 1 H) 6,55 (d, J=2,64 Гц, 1 H) 7,02 (t, J=55,00 Гц, 1 H) 7,35 (d, J=3,08 Гц, 1 H) 7,41 - 7,49 (m, 3 H) 7,90 (s, 1 H) 8,59 (s, 1 H);

Спол. № 321: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 0,81 (d, J=6,60 Гц, 3 H) 1,47 (qd, J=12,43, 4,29 Гц, 1 H) 1,85 - 1,93 (m, 1 H) 2,39 - 2,46 (m, 1 H) 2,94 (s, 3 H) 3,09 - 3,18 (m, 1 H) 3,33 - 3,40 (m, 1 H) 3,57 - 3,64 (m, 1 H) 3,83-4,52 (m, 2 H) 6,82 (m, 1 H) 7,00 (m, 1 H) 7,43 (s, 1 H) 7,46 (s, 1 H) 7,55 (s, 1 H) 8,69 (s, 1 H);

Спол. № 335: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 1,74 - 2,00 (m, 6 H) 2,02 - 2,08 (m, 1 H) 2,36 - 2,41 (m, 1 H) 2,42 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 4,08 - 4,14 (m, 1 H) 4,81 - 4,85 (m, 1 H) 5,13 - 5,17 (m, 1 H) 7,05 (t, J=54,40 Гц, 1 H) 7,56 (s, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,69 (s, 1 H);

Спол. № 356: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСІЯ) δ ppm 1,68 - 1,89 (m, 4 H) 1,92 - 2,04 (m, 3 H) 2,30 - 2,45 (m, 1 H) 4,01 - 4,07 (m, 1 H) 4,39 - 4,84 (m, 2 H) 7,01 (t, J=52,80 Гц, 1 H) 7,49 (s, 1 H) 7,58 (dd, J=8,25, 1,87 Гц, 1 H) 7,71 (d, J=8,14 Гц, 1 H) 7,83 (d, J=1,54 Гц, 1 H) 8,58 (br s, 1 H).

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ПРИКЛАДИ

Сполуки, представлені у даному винаході, являють собою інгібітори PDE2, зокрема PDE2A. Результати тестування сполук у декількох фармакологічних аналізах показані нижче.

АНАЛІЗ PDE2A IN VITRO

Рекомбінантну PDE2A (hPDE2A) людини експресували у клітинах Sf9 із застосуванням рекомбінантної конструкції rPDE10A на основі бакуловірусу. Клітини збирали через 48 год. після інфікування та білок hPDE2A очищували за допомогою метал-хелатної хроматографії на Ni-сефарозі 6FF. Сполуки, які тестуються, розчиняли та розбавляли у 100% DMSO до 100-кратної концентрації порівняно з кінцевою концентрацією в аналізі. Розведення сполуки (0,4 мкл) додавали у 384-лункові планшети до 20 мкл буфера для інкубації (50 mM Tris, pH 7,8, 8,3 mM MgCl₂, 1,7 mM EGTA). У буфер для інкубації додавали 10 мкл ферменту hPDE2A та реакцію починали шляхом додавання 10 мкл субстрату до кінцевої концентрації, що становить 10 мкМ cGMP та 0,01 мкМ ^3H -cGMP. Реакційну суміш інкубували протягом 45 хвилин за кімнатної температури. Після інкубації реакцію зупиняли за допомогою 20 мкл стоп-реагенту, який складається із гранул із PDE для SPA (сцинтиляційного аналізу зближення) за концентрації 17,8 мг/мл, доповнених 200 mM ZnCl₂. Після осаджування гранул протягом 30 хвилин вимірювали радіоактивність за допомогою сцинтиляційного лічильника Perkin Elmer Topcount, та результати виражали в імп./хв. Для одержання значень для холостої проби фермент не включали у реакційну суміш, а заміняли буфером для інкубації. Контрольні значення одержували шляхом додавання DMSO у кінцевій концентрації 1% замість сполуки. Криву найкращого наближення будували по точках за допомогою способу найменшої суми квадратів на графіку залежності % контрольного значення із віднятим значенням для холостої проби від концентрації сполуки, та на підставі цієї кривої одержували значення концентрації напівмаксимального інгібування (IC₅₀).

АНАЛІЗ PDE3A IN VITRO

Рекомбінантну PDE3A (hPDE3A) людини придбали у вигляді частково очищеного лізату клітин комах від Scottish Biomedical, її клонували із головного мозку людини й експресували у клітинах Sf9. Сполуки, які тестуються, розчиняли та розбавляли у 100% DMSO до 100-кратної концентрації порівняно з кінцевою концентрацією в аналізі. Розведення сполуки (0,4 мкл) додавали у 384-лункові планшети до 20 мкл буфера для інкубації (50 mM Tris, pH 7,8, 8,3 mM MgCl₂, 1,7 mM EGTA). У буфер для інкубації додавали 10 мкл ферменту hPDE3A та реакцію починали шляхом додавання 10 мкл субстрату до кінцевої концентрації, що становить 0,4 мкМ cAMP та 2,4 мкКі/мл [³H]-cAMP. Реакційну суміш інкубували протягом 60 хв. за кімнатної температури. Після інкубації реакцію зупиняли за допомогою 20 мкл стоп-реагенту, який складається із гранул із PDE для SPA (сцинтиляційного аналізу зближення) за концентрації 17,8 мг/мл, доповнених 200 mM ZnCl₂. Після осаджування гранул протягом 30 хв. вимірювали радіоактивність за допомогою сцинтиляційного лічильника Perkin Elmer Tricount, та результати виражали в імп./хв. Для одержання значень для холостої проби фермент не включали у реакційну суміш, а заміняли буфером для інкубації. Контрольні значення одержували шляхом додавання DMSO у кінцевій концентрації 1% замість сполуки. Криву найкращого наближення будували по точках за допомогою способу найменшої суми квадратів на графіку залежності % контрольного значення із віднятим значенням для холостої проби від концентрації сполуки, та на підставі цієї кривої одержували значення концентрації напівмаксимального інгібування (IC₅₀).

АНАЛІЗ PDE10A IN VITRO

Рекомбінантну PDE10A (rPDE10A2) щура експресували у клітинах Sf9 із застосуванням рекомбінантної конструкції rPDE10A на основі бакуловірусу. Клітини збирали через 48 год. після інфікування та білок rPDE10A очищували за допомогою метал-хелатної хроматографії на Ni-сефарозі 6FF. Сполуки, які тестуються, розчиняли та розбавляли у 100% DMSO до 100-кратної концентрації порівняно з кінцевою концентрацією в аналізі. Рекомбінантну PDE10A (hPDE2A) людини експресували у клітинах Sf9 із застосуванням рекомбінантної конструкції hPDE10A на основі бакуловірусу, яку одержували й ампліфікували в лабораторії. Клітини збирали через 72 год. після інфікування та білок hPDE10A очищували за допомогою метал-хелатної хроматографії на Ni-сефарозі. Розведення сполуки (0,4 мкл) додавали у 384-лункові планшети до 20 мкл буфера для інкубації (50 mM Tris, pH 7,8, 8,3 mM MgCl₂, 1,7 mM EGTA). У буфер для інкубації додавали 10 мкл ферменту rPDE10A або hPDE10A та реакцію починали шляхом додавання 10 мкл субстрату до кінцевої концентрації, що становить 60 нМ cAMP та 0,008 мкКі ³H-cAMP. Реакційну суміш інкубували протягом 60 хвилин за кімнатної температури. Після інкубації реакцію зупиняли за допомогою 20 мкл стоп-реагенту, який складається із гранул із PDE для SPA (сцинтиляційного аналізу зближення) за концентрації 17,8 мг/мл. Після осаджування гранул протягом 30 хвилин вимірювали радіоактивність за допомогою сцинтиляційного лічильника Perkin Elmer Tricount, та результати виражали в імп./хв. Для одержання значень для холостої проби фермент не включали у реакційну суміш, а заміняли буфером для інкубації. Контрольні значення одержували шляхом додавання DMSO у кінцевій концентрації 1% замість сполуки. Криву найкращого наближення будували по точках за допомогою способу найменшої суми квадратів на графіку залежності % контрольного значення із віднятим значенням для холостої проби від концентрації сполуки, та на підставі цієї кривої одержували значення концентрації напівмаксимального інгібування (IC₅₀).

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
1b	5,96	88	<5	13	5,01	50
1a	9,1	100	5,68	65	7,89	98
2b	7,72	100	<5	31	6,57	95
2a	9,23	101	6,11	98	8,14	101
3b	5,25	64	<5	14	<5	19
3a	8,24	97	5,46	77	6,57	93

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
4	8,84	100	5,24	70	7,62	99
5	9,02	100	6,23	97	8,05	100
6	8,79	99	6,17	97	7,75	100
7	9,1	100	7,12	100	7,77	101
8	8,96	100	6,56	97	7,95	100
9	7,86	101	5,37	74	7,13	100
10	8,96	100	7,14	101	8,34	100
11	7,64	100	5,32	69	6,43	95
12	7,67	101	5,96	94	6,44	97
13	7,98	100	<5	38	6,46	95
14	8,22	99	5,33	70	7,05	99
15	8,49	100	5,09	54	7,14	97
16	8,21	100	5,78	88	7,2	98
17	8,31	99	5,37	74	7,09	97
18	8,33	100	5,19	65	6,71	97
19	7,98	101	5,51	79	6,89	96
20	7,92	101	5,37	74	6,88	98
21	8,34	99	5,82	89	6,88	97
22	8,63	100	5,82	87	7,8	99
23	9,33	101	5,98	90	8,15	100
24a	5,59	80	<5	31	<5	23
24b	8,19	98	<5	28	5,13	60
25a	9,15	100	5,04	57	6,41	96
25b	5,96	92	<5	37	<5	28
26a	<5	21	<5	0	<5	7
26b	8,17	98	<5	41	6,63	95
27	9,04	100	<5	37	5,96	88
28	9,02	101	<5	17	6,35	95
29	8,82	101	<5	18	6,16	90
30	5,45	77	<5	8	<5	32
31	8,6	100	<5	8	5,95	84
32	8,46	100	<5	31	5,84	81
33	7,83	99	<5	25	5,21	67
34	5,71	88	<5	31	<5	28
35	8,17	100	<5	1	5,59	76
38	8,21	100	<5	43	5,64	80
39	8,08	98	<5	16	5,51	75
40	9,45	101	5,15	58	6,91 (h) 7,1 (r)	97 (h) 96 (r)
41	7,86	99	<5	17	5,38	72
42	8,94	100	<5	48	6,5	95
43	8,3	99	<5	29	5,88	88
44	8,02	100	<5	39	5,59	79
45	<5	37	<5	1	<5	24
46	7,82	100	<5	5	5,65	86
47	8,6	99	5,47	80	6,19	92
48	9,76	100	7,06	99	7,36	100
49	8,68	99	5,24	42	6,29	95

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
50	8,51	100	<5	61	6,14	93
51	8,26	101	<5	44	5,9	86
52	7,86	101	<5	22	5,52	76
53	8,25	100	5,17	62	6,11	89
54	8,38	100	5,02	51	6,18	89
55	7,9	101	<5	41	5,75	83
56	7,3	101	<5	38	5,25	63
57	7,56	100	<5	21	5,5	78
58	7,61	99	<5	18	5,35	69
59	8,43	98	5,07	56	6,23	95
60	9,07	100	5,96	92	6,82	97
61	8,36	101	<5	45	6,34	92
63	8,14	100	5,16	60	6,06	89
64	8,8	99	5,17	62	6,45	96
65	8,9	100	5,17	70	6,6	95
66	7,76	99	<5	48	5,64	79
67	8,59	99	<5	49	6,54	94
68	8,2	99	5	50	5,86	85
69	9,39	102	6,42	95	7,34	100
70	8,76	102	5,21	63	6,42	95
71	8,73	98	<6	32	6,47	94
72	8,99	100	<6	46	6,98	92
73	8,71	101	5,58	83	6,66	98
74	7,52	101	<5	30	<5	36
75	5,53	81	<5	22	<5	27
76	9,64	99	5,91	91	7,5	101
77	9,34	101	6,17	96	7,08	98
78	9	102	5,8	87	6,98	98
79	8,76	99	6,04	93	6,72	97
80	9,1	100	5,38	71	7,09	98
81	5,15	59	<5	17	<5	1
82	7,47	101	<5	9	<5	18
83	9,03	100	5,1	58	7,01	98
84	8,5	101	5,13	30	6,15	89
85	8,19	100	5,11	37	5,92	88
87	6,67	98	<5	11	5,34	69
88	9,68	101	6,41	97	8,4	99
89	9,64	104	6,84	96	7,68 (h) 7,92 (r)	101 (h) 98 (r)
90	9,45	101	6,67	98	7,71	102
91	9,43	100	6,15	61	7,65	94
92	9,4	100	5,88	88	7,61	98
93	9,4	101	5,61	84	7,44	99
94	9,3	101	6,98	99	7,93	97
95	9,29	100	5	55	7,32	98
96	9,26	100	6,4	73	7,48	95
97	9,24	101	5,89	93	7,27 (h) 7,46 (r)	101 (h) 99 (r)

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
98	9,22	100	6,22	94	7,4	98
99	9,22	100	5,68	87	8,02	100
100	9,18	101	6,57	99	7,79	100
101	9,18	101	5,32	70	7,24	98
102	9,17	100	<6	44	7,58	95
103	9,15	99	7,06	100	7,74	100
104	9,09	100	6,29	92	7,13	98
105	9,06	101	5,87	90	7,53	101
106	9,05	100	6,41	98	7,67	99
107	9,04	100	5,38	61	7,09	99
108	9,04	100	5,57	80	7,28	99
109	9,03	101	6,34	98	8,18	99
110	9,02	101	5,58	78	7,14	98
111	9,01	100	5,98	92	7,42	99
112	9	101	5,75	84	7,32	99
113	9	99	5,95	88	7,42	99
114	8,98	100	7,05	98	7,34	101
115	8,98	100	5,71	87	7,11	99
116	8,94	100	6,07	97	8,01	99
116	8,95	101	5,66	82	7,1	98
118	8,78	101	6,02	92	7,13	99
119	8,76	100	7,21	101	7,11	99
120	8,76	100	6,15	95	6,7	96
121	8,75	99	6,29	95	7,23	96
122	8,73	100	5,74	86	7,13	100
123	8,71	99	5,79	87	7,04	99
124	8,69	99	6,38	98	7,44	98
125	8,68	100	6,23	96	6,23	96
126	8,68	101	5,22	65	6,95	97
127	8,65	99	6,36	94	7,59	99
128	8,64	100	6,03	90	6,81	98
129	8,64	101	5,71	85	7,04	99
130	8,61	100	5,76	87	6,87	96
131	8,61	98	5,11	61	7,39	99
132	8,6	101	<5	46	6,7	98
133	8,53	100	5,79	85	6,87	98
134	8,5	101	5,65	84	6,8	100
135	8,48	100	5,58	81	6,72	97
136	8,47	101	<5	51	6,54	97
137	7,55	100	<5	35	5,87	84
139	7,54	99	<5	20	5,62	78
140	7,53	100	5,05	57	5,51	83
141	7,53	100	<5	12	5,69	81
142	7,52	100	<5	35	5,59	79
143	7,48	97	5,1	58	5,62	77
144	7,46	100	5,62	86	6,33	96
145	7,44	99	5,69	86	6,19	93
147	7,42	100	5,65	81	6,06	90

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
148	7,41	101	5,25	67	6,04	89
149	7,41	99	5,29	66	5,74	83
150	7,4	100	<5	22	5,45	72
152	7,38	99	<5	30	5,69	80
153	7,36	100	5,51	76	5,97	89
154	7,29	100	<5	50	5,56	79
155	7,27	98	<5	37	5,53	72
156	7,23	100	<5	19	5,7	81
157	7,22	99	<5	33	5,59	75
158	7,19	100	<5	19	5,67	78
159	7,14	100	<5	42	5,49	75
160	7,14	99	<5	34	5,99	88
161	7,13	98	<5	11	5,51	74
162	7,13	97	<5	26	5,37	72
163	7,05	98	<5	12	5,49	74
164	7,05	100	<5	22	5,71	82
165	7,03	100	<5	36	5,46	78
166	7,03	98	<5	32	5,65	81
167	7,01	97	5,27	64	5,7	81
168	8,4	98	5,29	66	7,27	99
169	8,43	98	5,75	82	6,75	98
170	8,34	100	5,67	84	5,89	84
171	7,93	99	5,94	93	6,45	97
172	8,34	101	6,57	98	7,49	100
173	7,86	101	<5	31	6,52	96
174	8,28	99	5,88	85	6,24	88
175	8,31	100	5,22	71	6,85	98
176	8,04	100	5,06	56	6,05	88
177	8,02	99	<5	21	6,34	93
178	7,87	101	5,13	62	6,1	92
179	7,67	100	<5	32	6,27	90
180	8,3	100	5,29	66	6,76	97
181	8,34	98	<5	52	6,51	94
182	7,6	100	<5	44	6,38	95
183	7,58	99	<5	36	5,64	79
184	7,55	100	<5	17	5,56	75
186	7,97	100	5,22	69	6,47	95
187	7,75	99	5,46	74	6,37	95
188	8,07	99	5,81	87	6,68	98
189	8,29	100	5,56	80	6,73	96
190	7,99	100	<5	39	6,8	96
191	7,89	100	5,41	74	6,65	97
192	8,03	99	6,14	95	7,14	99
193	8,23	100	5,46	76	6,86	98
194	7,73	99	5,34	57	6,58	97
195	8,35	98	5,25	70	6,43	93
196	7,63	99	5,31	68	6,25	92
197	7,99	98	<5	42	6,68	96

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
198	8,25	98	<5	35	6,38	91
199	7,27	92	5,08	62	5,23 (h) 5,32 (r)	62 (h) 21 (r)
200	7,01	91	<5	35	<5	13
201	6,19	61	<5	24	5,51 (r)	-1 (r)
202	5,57	30	<5	18	<5 (h) <5 (r)	38 (h) 4 (r)
203	6,02	48	<5	41	<5 (r)	14 (r)
204	6,79	88	5,13	48	<5 (r)	13 (r)
205	8,94	99	5,65	83	7,01	98
206	5,78	39	<5	-1	<5	16
207	5,1	21	<5	2	<5	-5
208	6,23	62	<5	30	<5	4
209	6,14	57	<5	25	<5	7
210	6,21	56	<5	5	<5	16
211	<5	3	<5	13	<5	10
212	6,24	61	<5	7	<5	8
213	5,63	28	<5	11	<5	23
214	5,2	9	<5	9	<5	30
215	6,58	82	5	45	5,13	63
216	6,36	98	<5	26	5,35	67
217	6,25	99	<5	37	5,32	72
218	6,69	100	<5	51	5,65	85
219	6,86	100	<5	18	5,04	45
220 (.HCl)	6,01	54	<5	7	<5	27
221	5,92	45	<5	4	<5	26
222	6,55	98	<5	13	5,17	59
223	6,71	98	<5	19	5,46	71
226	9,06	100	6,89	100	7,09	100
227	8,66	101	6,42	95	7,34	98
228	9,65	100	5,92	91	7,77	100
229	6,25	95	<5	18	<5	33
230	5,99	93	<5	40	5,27	65
231	8,87	97	5,04	57	7,71	100
232	6,67	99	<5	31	<5	48
233	6,24	94	<5	10	<5	26
234	6,29	96	<5	22	5,06	59
235	6,91	98	<5	32	5,26	67
236	6,68	100	<5	18	5,11	58
237	6,73	97	<5	20	5,09	51
238	6,42	94	<5	35	5	48
239	6,72	96	<5	16	<5	43
240	5,81	90	<5	9	5,04	51
241	7,68	97	5,76	88	6,57	94
242	6,87	97	5,21	67	5,09	56
243	6,88	99	<5	13	5,44	70

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
244	6,17	92	<5	12	5,03	54
245	6,91	99	5,23	62	5,66	79
246	6,9	98	<5	25	<5	44
247	6,81	98	5,69	85	5,54	77
248	6,46	95	<5	2	4,98	49
249	6,43	95	<5	10	<5	45
250	6,88	99	<5	28	5,31	64
251	6,55	98	<5	17	5,06	53
252	6,15	96	<5	17	5,17	66
253	6,34	95	<5	17	<5	39
254	6,97	99	<5	25	5,42	70
255	6,57	95	<5	28	5,11	58
256	6,49	97	<5	12	5	48
257	6,58	95	<5	15	<5	45
258	6,82	99	5,81	89	5,9	90
259	6,37	99	5,45	82	5,77	92
260	6,86	97	<5	23	5,53	74
261	6,44	95	<5	19	<5	45
262	6,81	101	<5	37	5,49	74
263	6,89	99	5,31	65	5,29	64
264	6,98	100	4,98	47	5,48	74
265	8,62	102	5,2	55	7,43	98
266	6,38	100	5,27	74	5,58	89
267	9,4	102	7,21	100	7,95	99
268	5,72	82	<5	13	<5	39
269	9,15	101	5,43	78	6,16	93
270	8,63	100	<5	29	6,57	96
271	8,53	99	5,13	61	6,79	95
272	8,66	102	5,05	54	6,1	93
273	8,63	100	6,09	96	6,01	96
274	6,54	97	<5	7	5,22	63
1a	9,1	100	5,68	65	7,89	98
1b	5,96	88	<5	13	5,01	50
2a	9,23	101	6,11	98	8,14	101
2b	7,72	100	<5	31	6,57	95
3a	8,24	97	5,46	77	6,57	93
3b	5,25	64	<5	14	<5	19
4	8,84	100	5,24	70	7,62	99
5	9,02	100	6,23	97	8,05	100
6	8,79	99	6,17	97	7,75	100
7	9,1	100	7,12	100	7,77	101
8	8,96	100	6,56	97	7,95	100
9	7,86	101	5,37	74	7,13	100
10	8,96	100	7,14	101	8,34	100
11	7,64	100	5,32	69	6,43	95
12	7,67	101	5,96	94	6,44	97
13	7,98	100	<5	38	6,46	95
14	8,22	99	5,33	70	7,05	99

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
15	8,49	100	5,09	54	7,14	97
16	8,21	100	5,78	88	7,2	98
17	8,31	99	5,37	74	7,09	97
18	8,33	100	5,19	65	6,71	97
19	7,98	101	5,51	79	6,89	96
20	7,92	101	5,37	74	6,88	98
21	8,34	99	5,82	89	6,88	97
22	8,63	100	5,82	87	7,8	99
23	9,33	101	5,98	90	8,15	100
24a	5,59	80	<5	31	<5	23
24b	8,19	98	<5	28	5,13	60
25a	8,97	100	5,06	54	6,23	94
25b	5,96	92	<5	37	<5	28
26a	<5	21	<5	0	<5	7
26b	8,17	98	<5	41	6,63	95
27	9,04	100	<5	37	5,96	88
28	9,02	101	<5	17	6,35	95
29	8,82	101	<5	18	6,16	90
30	5,45	77	<5	8	<5	32
31	8,6	100	<5	8	5,95	84
32	8,46	100	<5	31	5,84	81
33	7,83	99	<5	25	5,21	67
34	5,71	88	<5	31	<5	28
35	8,17	100	<5	1	5,59	76
36	8,56	100	5,4	64	6,33	93
37	7,76	100	5,05	52	6,37	93
38	8,21	100	<5	43	5,64	80
39	8,08	98	<5	16	5,51	75
40	9,45	101	5,15	58	6,91 (h) 7,1 (r)	97 (h) 96 (r)
41	7,86	99	<5	17	5,38	72
42	8,94	100	<5	48	6,5	95
43	8,3	99	<5	29	5,88	88
44	8,02	100	<5	39	5,59	79
45	<5	37	<5	1	<5	24
46	7,82	100	<5	5	5,65	86
47	8,6	99	5,47	80	6,19	92
48	9,76	100	7,06	99	7,36	100
49	8,68	99	5,24	42	6,29	95
50	8,51	100	<5	61	6,14	93
51	8,26	101	<5	44	5,9	86
52	7,86	101	<5	22	5,52	76
53	8,25	100	5,17	62	6,11	89
54	8,38	100	5,02	51	6,18	89
55	7,9	101	<5	41	5,75	83
56	7,3	101	<5	38	5,25	63
57	7,56	100	<5	21	5,5	78
58	7,61	99	<5	18	5,35	69

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
59	8,43	98	5,07	56	6,23	95
60	9,07	100	5,96	92	6,82	97
61	8,36	101	<5	45	6,34	92
62	5,52	77	<5	8	<5	36
63	8,14	100	5,16	60	6,06	89
64	8,8	99	5,17	62	6,45	96
65	8,9	100	5,17	70	6,6	95
66	7,76	99	<5	48	5,64	79
67	8,59	99	<5	49	6,54	94
68	8,2	99	5	50	5,86	85
69	9,39	102	6,42	95	7,34	100
70	8,71	102	5,29	66	6,48	93
71	8,73	98	<6	32	6,47	94
72	8,99	100	<6	46	6,98	92
73	8,71	101	5,58	83	6,66	98
74	7,52	101	<5	30	<5	36
75	5,53	81	<5	22	<5	27
76	9,64	99	5,91	91	7,5	101
77	9,34	101	6,17	96	7,08	98
78	9	102	5,8	87	6,98	98
79	8,76	99	6,04	93	6,72	97
80	9,1	100	5,38	71	7,09	98
81	5,15	59	<5	17	<5	1
82	7,47	101	<5	9	<5	18
83	9,03	100	5,1	58	7,01	98
84	8,5	101	5,13	30	6,15	89
85	8,19	100	5,11	37	5,92	88
86	7,3	100	<5	34	<5	40
87	6,67	98	<5	11	5,34	69
88	9,68	101	6,41	97	8,4	99
89	9,64	104	6,84	96	7,68 (h) 7,92 (r)	101 (h) 98 (r)
90	9,45	101	6,67	98	7,71	102
91	9,43	100	6,15	61	7,65	94
92	9,4	100	5,88	88	7,61	98
93	9,34	101	5,59	84	7,4	99
94	9,3	101	6,98	99	7,93	97
95	9,29	100	5	55	7,32	98
96	9,26	100	6,4	73	7,48	95
97	9,24	101	5,89	93	7,27 (h) 7,46 (r)	101 (h) 99 (r)
98	9,22	100	6,22	94	7,4	98
99	9,22	100	5,68	87	8,02	100
100	9,18	101	6,57	99	7,79	100
101	9,18	101	5,32	70	7,24	98
102	9,17	100	<6	44	7,58	95
103	9,15	99	7,06	100	7,74	100
104	9,09	100	6,29	92	7,13	98

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
105	9,06	101	5,87	90	7,53	101
106	9,05	100	6,41	98	7,67	99
107	9,04	100	5,38	61	7,09	99
108	9,04	100	5,57	80	7,28	99
109	9,03	101	6,34	98	8,18	99
110	8,88	100	5,47	76	6,95	98
111	9,01	100	5,98	92	7,42	99
112	9	101	5,75	84	7,32	99
113	9	99	5,95	88	7,42	99
114	8,98	100	7,05	98	7,34	101
115	8,98	100	5,71	87	7,11	99
117	8,94	100	6,07	97	8,01	99
116	8,95	101	5,66	82	7,1	98
118	8,78	101	6,02	92	7,13	99
119	8,76	100	7,21	101	7,11	99
120	8,76	100	6,15	95	6,7	96
121	8,75	99	6,29	95	7,23	96
122	8,73	100	5,74	86	7,13	100
123	8,71	99	5,79	87	7,04	99
124	8,69	99	6,38	98	7,44	98
125	8,68	100	6,23	96	6,23	96
126	8,68	101	5,22	65	6,95	97
127	8,65	99	6,36	94	7,59	99
128	8,64	100	6,03	90	6,81	98
129	8,64	101	5,71	85	7,04	99
130	8,61	100	5,76	87	6,87	96
131	8,61	98	5,11	61	7,39	99
132	8,6	101	<5	46	6,7	98
133	8,53	100	5,79	85	6,87	98
134	8,5	101	5,65	84	6,8	100
135	8,48	100	5,58	81	6,72	97
136	8,47	101	<5	51	6,54	97
137	7,55	100	<5	35	5,87	84
138	7,55	93	5,31	64	<5	24
139	7,54	99	<5	20	5,62	78
140	7,53	100	5,05	57	5,51	83
141	7,53	100	<5	12	5,69	81
142	7,52	100	<5	35	5,59	79
143	7,48	97	5,1	58	5,62	77
144	7,46	100	5,62	86	6,33	96
145	7,44	99	5,69	86	6,19	93
146	7,43	100	5,78	85	5,48	76
147	7,42	100	5,65	81	6,06	90
148	7,41	101	5,25	67	6,04	89
149	7,41	99	5,29	66	5,74	83
150	7,4	100	<5	22	5,45	72
151	7,39	100	<5	11	5,86	85
152	7,38	99	<5	30	5,69	80

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
153	7,36	100	5,51	76	5,97	89
154	7,29	100	<5	50	5,56	79
155	7,27	98	<5	37	5,53	72
156	7,23	100	<5	19	5,7	81
157	7,22	99	<5	33	5,59	75
158	7,19	100	<5	19	5,67	78
159	7,14	100	<5	42	5,49	75
160	7,14	99	<5	34	5,99	88
161	7,13	98	<5	11	5,51	74
162	7,13	97	<5	26	5,37	72
163	7,05	98	<5	12	5,49	74
164	7,05	100	<5	22	5,71	82
165	7,03	100	<5	36	5,46	78
166	7,03	98	<5	32	5,65	81
167	7,01	97	5,27	64	5,7	81
168	8,4	98	5,29	66	7,27	99
169	8,43	98	5,75	82	6,75	98
170	8,34	100	5,67	84	5,89	84
171	7,93	99	5,94	93	6,45	97
172	8,34	101	6,57	98	7,49	100
173	7,86	101	<5	31	6,52	96
174	8,28	99	5,88	85	6,24	88
175	8,31	100	5,22	71	6,85	98
176	8,04	100	5,06	56	6,05	88
177	8,02	99	<5	21	6,34	93
178	7,87	101	5,13	62	6,1	92
179	7,67	100	<5	32	6,27	90
180	8,3	100	5,29	66	6,76	97
181	8,34	98	<5	52	6,51	94
182	7,6	100	<5	44	6,38	95
183	7,58	99	<5	36	5,64	79
184	7,55	100	<5	17	5,56	75
185	7,66	98	5,48	79	5,92	87
186	7,97	100	5,22	69	6,47	95
187	7,75	99	5,46	74	6,37	95
188	8,07	99	5,81	87	6,68	98
189	8,29	100	5,56	80	6,73	96
190	7,99	100	<5	39	6,8	96
191	7,89	100	5,41	74	6,65	97
192	8,03	99	6,14	95	7,14	99
193	8,23	100	5,46	76	6,86	98
194	7,73	99	5,34	57	6,58	97
195	8,35	98	5,25	70	6,43	93
196	7,63	99	5,31	68	6,25	92
197	7,99	98	<5	42	6,68	96
198	8,25	98	<5	35	6,38	91
199	7,27	92	5,08	62	5,23 (h) 5,32 (r)	62 (h) 21 (r)

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
200	7,01	91	<5	35	<5	13
201	6,19	61	<5	24	5,51 (r)	-1 (r)
202	5,57	30	<5	18	<5 (h) <5 (r)	38 (h) 4 (r)
203	6,02	48	<5	41	<5 (r)	14 (r)
204	6,79	88	5,13	48	<5 (r)	13 (r)
205	8,94	99	5,65	83	7,01	98
206	5,78	39	<5	-1	<5	16
207	5,1	21	<5	2	<5	-5
208	6,23	62	<5	30	<5	4
209	6,14	57	<5	25	<5	7
210	6,21	56	<5	5	<5	16
211	<5	3	<5	13	<5	10
212	6,24	61	<5	7	<5	8
213	5,63	28	<5	11	<5	23
214	5,2	9	<5	9	<5	30
215	6,58	82	5	45	5,13	63
216	6,36	98	<5	26	5,35	67
217	6,25	99	<5	37	5,32	72
218	6,69	100	<5	51	5,65	85
219	6,86	100	<5	18	5,04	45
220	6,52	54	<5	8	<5	41
220 (.HCl)	6,52	54	<5	8	<5	41
221	5,92	45	<5	4	<5	26
222	6,55	98	<5	13	5,17	59
223	6,71	98	<5	19	5,46	71
224	8,52	100	5,98	87	7,15	99
225	7,94	99	5,75	83	7,03	98
226	9,06	100	6,89	100	7,09	100
227	8,66	101	6,42	95	7,34	98
228	9,65	100	5,92	91	7,77	100
229	6,25	95	<5	18	<5	33
230	5,99	93	<5	40	5,27	65
231	8,87	97	5,04	57	7,71	100
232	6,67	99	<5	31	<5	48
233	6,24	94	<5	10	<5	26
234	6,29	96	<5	22	5,06	59
235	6,91	98	<5	32	5,26	67
236	6,68	100	<5	18	5,11	58
237	6,73	97	<5	20	5,09	51
238	6,42	94	<5	35	5	48
239	6,72	96	<5	16	<5	43
240	5,81	90	<5	9	5,04	51
241	7,68	97	5,76	88	6,57	94
242	6,87	97	5,21	67	5,09	56
243	6,88	99	<5	13	5,44	70
244	6,17	92	<5	12	5,03	54

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
245	6,91	99	5,23	62	5,66	79
246	6,9	98	<5	25	<5	44
247	6,81	98	5,69	85	5,54	77
248	6,46	95	<5	2	4,98	49
249	6,43	95	<5	10	<5	45
250	6,88	99	<5	28	5,31	64
251	6,55	98	<5	17	5,06	53
252	6,15	96	<5	17	5,17	66
253	6,34	95	<5	17	<5	39
254	6,97	99	<5	25	5,42	70
255	6,57	95	<5	28	5,11	58
256	6,49	97	<5	12	5	48
257	6,58	95	<5	15	<5	45
258	6,82	99	5,81	89	5,9	90
259	6,37	99	5,45	82	5,77	92
260	6,86	97	<5	23	5,53	74
261	6,44	95	<5	19	<5	45
262	6,81	101	<5	37	5,49	74
263	6,89	99	5,31	65	5,29	64
264	6,98	100	4,98	47	5,48	74
265	8,62	102	5,2	55	7,43	98
266	6,38	100	5,27	74	5,58	89
267	9,4	102	7,21	100	7,95	99
268	5,72	82	<5	13	<5	39
269	8,93	99	5,43	78	6,25	93
270	8,34	99	<5	29	6,48	96
271	8,66	99	5,13	61	6,78	95
272	8,81	97	5,05	54	6,28	93
273	8,63	100	6,09	96	6,01	96
274	6,54	97	<5	7	5,22	63
275	8,55	100	6,01	92	7,54	100
276	8,65	100	5,89	93	6,78	98
277	7,12	99	<5	14	<5	27
278	9,03	99	6,15	97	6,84	99
279	8,65	99	5,55	86	6,5	96
280	8,6	100	6,03	96	6,61	99
281	8,78	100	5,65	87	6,96	99
282	8,54	100	5,77	88	6,56	98
283	8,07	100	<5	38	6,75	98
284	8,77	101	5,9	89	7,26	98
285	5,16	65	<5	21	<5	37
286	8,16	101	<5	14	5,65	79
287	8,42	100	5,2	61	6,76	98
288	8,57	101	<5	44	6,38	93
289	8,62	100	6,75	98	7,2	99
290	8,23	98	5,16	53	5,85	89
291	8,57	101	5,58	86	6,29	95
292	8,6	100	5,33	73	6,14	94

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
293	7,95	100	5,46	80	5,99	90
294	7,97	99	<5	14	5,68	81
295	9,31	101	6,01	94	6,61	98
296	9,34	99	6,1	93	6,92	100
297	8,63	97	5,23	62	6,23	96
298	7,73	99	<5	25	<5	47
299	8,11	99	<5	40	5,67	84
300	8,19	100	5,7	88	5,54	80
301	8,09	100	5,2	62	5,9	89
302	8,19	101	5,1	59	6,05	93
303	8,15	99	5,18	57	6,27	95
304	7,4	100	5,04	48	<5	45
305	7,06	100	<5	7	5,15	57
306	7,35	100	5,35	71	5,44	74
307	8,04	99	5,83	88	6,22	97
308	7,76	98	5,34	72	5,17	66
309	8,53	100	5,12	53	5,82	86
310	8,85	100	5,41	78	6,4	95
311	8,96	96	5,13	62	6,37	96
312	7,66	99	<5	37	6,21	93
313	8,87	97	5,22	61	5,91	86
314	8,24	100	5,45	73	6,03	91
315	6,95	98	<5	20	5,01	47
316	6,59	94	<5	5	<5	14
317	7,07	99	<5	15	<5	34
318	5,82	89	<5	11	<5	13
319	8,95	100	5,99	95	6,58	99
320	7,27	100	<5	47	5,15	62
321	8,66	101	5,09	45	6,51	97
322	9,3	100	6,32	95	7,73	99
323	8,41	100	6,14	95	6,65	97
324	9,07	100	6,58	97	7,18	100
325	8,94	100	6,51	98	7,19	98
326	8,67	100	6,59	97	7,22	99
327	9,38	101	7,11	99	7,69	100
328	9,2	100	5,83	90	7,21	100
329	9,26	100	6,69	95	7,67	100
331	9,32	98	7,3	99	7,84	100
332	8,32	99	5,92	90	7,51	98
333	8,09	99	5,16	63	6,15	93
334	8,61	100	5,63	84	7	98
335	9,02	102	5,14	52	7,06	98
336	7,73	101	5,49	78	5,72	87
337	6,78	99	<5	43	5,34	71
338	7,04	99	5,26	62	5,51	70
339	8,18	101	5,32	69	6,21	95
340	7,15	100	5,37	69	5,48	72
341	6,85	97	<5	33	5,3	63

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
342	7,49	100	5,35	69	5,57	77
343	7,17	102	<5	44	5,34	68
344	7,53	99	5,14	61	5,59	80
345	7,12	99	5,08	48	5,43	72
346	8,28	100	5,22	68	6,14	92
347	8,27	101	5,14	63	6	91
348	7,47	99	5,35	70	5,89	92
349	7,65	102	5,32	64	5,75	86
350	7,6	100	5,31	74	5,68	85
351	7,29	99	5,2	69	5,67	83
352	8,12	100	5,74	89	6,32	99
353	8,47	99	5,32	69	6,01	94
354	7,05	100	5,01	45	5,35	70
355	9,03	99	6,14	98	6,63	98
356	8,27	99	5,23	65	6,03	92
357	7,11	98	<5	34	5,47	73
358	7,57	102	<5	40	5,1	58
359	7,92	99	5,4	71	5,67	86
360	7,39	97	5,07	50	5,16	55
361	8,56	100	<5	37	6,45	92
362	8,77	99	6,06	88	6,1	93
363	9,56	99	6,21	97	6,75	98
364	8,41	101	5,5	75	5,74	85
365	7,2	99	<5	24	<5	33
366	7,99	99	<5	22	5,24	64
367	6,36	97	<5	21	<5	44
368	8,21	101	5,19	61	6,6	99
369	8,31	100	5,43	72	6,14	93
370	7,47	100	5,84	87	6,18	94
371	7,86	101	6,41	96	6,41	98
372	8,99	100	5,87	90	6,6	96
373	8,57	100	6,27	97	6,5	99
374	9,13	100	6,13	97	6,74	98
375	8,45	101	5,35	73	6,09	94
376	8,37	101	5,47	79	6,51	97
377	7,75	99	5,01	47	5,89	89
378	8,77	99	6,12	96	6,39	97
379	7,95	102	5,28	67	5,79	87
380	8,26	101	5,4	72	6,44	96
381	8,12	99	5	48	5,88	88
382	7,99	99	<5	37	5,4	75
386	8,62	98	5,6	79	6,26	93
387	8,54	100	5,77	88	6,56	98
390	8,68	98	5,59	84	7,21	99
391	8,62	99	5,65	81	7,2	97
392	8,95	99	6,35	97	6,58	93
394	8,03	99	<5	27	5,65	76
396	7,82	98	<5	56	5,83	84

Таблиця 5

Дані in vitro для сполук за даним винаходом. За визначенням дані щодо інгібування PDE10A стосуються людського клону (також вказаного як (h)), якщо не вказані як (r), що стосується щурячого клону

№ спол.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3B	pIC ₅₀ hPDE10A2 або rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 або rPDE10A2
398	8,31	99	5,28	67	6,23	95
400	7,65	99	<5	16	<5	41
402	7,58	100	<5	28	5,83	87

ЗАЙНЯТИСТЬ PDE2 ТЕСТОВИМИ СПОЛУКАМИ

Способи

Зайнятість PDE2A оцінювали за допомогою авторадіографії ex-vivo із застосуванням [³H]B-17a (описаний у WO2013/000924) як радіоліганду (сполука 12 у Buijnsters et al., (2014). Structure-Based Design of a Potent, Selective, and Brain Penetrating PDE2 Inhibitor with Demonstrated Target Engagement. ACS Med Chem Lett. 5(9):1049-53.)

Самців щурів Wistar (200-250 г) обробляли шляхом перорального введення середовища-носія або зростаючих доз [³H]B-17a та умертвляли через одну год. Головний мозок відразу видаляли з черепа та піддавали швидкому заморожуванню в охолоджену сухим льодом 2-метилбутані (-40°C). Зрізи смугастого тіла товщиною двадцять мкм нарізали за допомогою кріостатного мікротому Leica CM 3050 (van Hopplynus, Бельгія), розміщували у розмороженому стані на предметні скельця (SuperFrost Plus Slides, LaboNord, Франція) та зберігали за -20 °C до застосування.

Після розморожування зрізи висушували у холодному потоці повітря та інкубували протягом однієї хвилини із 30 нМ [³H]B-17a в Tris-HCl (50 мМ, pH 7,4), що містить 0,3% BSA. Зрізи головного мозку від оброблених лікарським засобом та оброблених середовищем-носієм тварин інкубували одночасно. Неспецифічне зв'язування вимірювали на зрізах мозочку, ділянці головного мозку, яка не містить ферменту PDE2A. Після інкубації надлишок [³H]B-17a змивали крижаним буфером 2 рази по 10 хвилин із наступним швидким зануренням у дистильовану воду. Потім зрізи висушували у потоці холодного повітря.

Зрізи головного мозку поміщали у β-imager (Biospace, Париж) на 4 год. і радіоактивність, що виходила від зрізаних ділянок головного мозку, кількісно оцінювали із застосуванням програми Beta vision (Biospace, Париж). Специфічне зв'язування визначали як різницю між загальним зв'язуванням у смугастому тілі та неспецифічним зв'язуванням у мозочку. Відсоток зайнятості рецептора лікарським засобом, який вводили тварині, відповідав 100% мінус відсоток міченого рецептора у обробленій тварині. Для визначення значень ED₅₀ значення відсотка зайнятості рецептора наносили на графік у залежності від дози та рівняння найбільш відповідної сигмоїдальної логарифмічної кривої доза-ефект розраховували за допомогою нелінійного регресивного аналізу із застосуванням програми Prism от GraphPad. Значення ED₅₀ (доза лікарського засобу, яка забезпечує 50% зайнятість рецептора) за довірчих інтервалів із надійністю 95% розраховували на підставі кривих доза-відповідь.

Таблиця 6

PO=перорально; SC=підшкірно

№ спол.	Зайнятість PDE2 за 10 мг/кг	Шлях введення під час визначення зайнятості PDE2 за 10 мг/кг	Зайнятість PDE, ED ₅₀	Шлях введення під час визначення зайнятості ED ₅₀
1a	37	PO		
2b	3	SC		
2a	70	SC		
3a	0	PO		
4	9	PO		
6	67	PO		

Таблиця 6

PO=перорально; SC=підшкірно

№ спол.	Зайнятість PDE2 за 10 мг/кг	Шлях введення під час визначення зайнятості PDE2 за 10 мг/кг	Зайнятість PDE, ED ₅₀	Шлях введення під час визначення зайнятості ED ₅₀
13	2	PO		
18	4	PO		
22	18	PO		
	30	PO		
24b	0	SC		
25a	66	SC	4	PO
25b	-9	PO		
27	34	PO		
28	49	SC	25	PO
29	31	SC		
30	0	SC		
32	-6	PO		
33	-7	PO		
35	-3	PO		
36	32	PO	45,2	PO
37	-13	PO		
38	1	PO		
39	-8	PO		
41	8	PO		
42	54	PO		
43	2	PO		
46	-9	PO		
47	5	PO		
48	96	SC		
49	12	SC		
50	-30	PO		
51	20	PO		
52	2	PO		
53	22	PO		
54	39	PO		
59	7	PO		
60	32	PO		
64	7	PO		
65	-23	PO		
	-9	PO		
66	-14	PO		
68	31	SC		
69	0	PO		
70	65	SC	6,4	PO
71	49	SC		
72	0	PO		
73	0	PO		
74	14	SC		
76	17	PO		
77	54	PO	5,67	PO
	54	PO		
78	77	SC		
79	15	PO		
	0	PO		
80	52	SC	8,63	PO

Таблиця 6

PO=перорально; SC=підшкірно

№ спол.	Зайнятість PDE2 за 10 мг/кг	Шлях введення під час визначення зайнятості PDE2 за 10 мг/кг	Зайнятість PDE, ED ₅₀	Шлях введення під час визначення зайнятості ED ₅₀
82	28	PO		
83	82	PO		
84	45	PO	14,13	PO
85	1	SC		
89	88	SC		
90	73	SC		
91	-7	PO		
93	85	PO	7,8	PO
95	27	SC		
96	1	PO		
97	92	PO		
99	1	PO		
101	43	SC		
102	-4	PO		
103	42	SC		
106	-0	PO		
107	29	PO		
108	65	PO	4,8	PO
109	43	PO		
110	75	PO	8,3	PO
115	23	PO		
117	8	PO		
116	3	SC		
120	12	PO		
121	-15	PO		
122	0	PO		
123	4	PO		
125	-16	PO		
126	31	PO		
127	34	PO		
	53	SC		
129	21	PO		
130	0	PO		
131	-0	PO		
132	76	SC	5	PO
133	-19	PO		
134	21	PO		
139	-11	PO		
169	3	PO		
170	1	PO		
184	-2	PO		
186	8	SC		
187	0	SC		
188	2	SC		
189	9	PO		
190	1	PO		
191	-18	PO		
192	-13	PO		
193	-11	PO		
	-3	SC		

Таблиця 6

PO=перорально; SC=підшкірно

№ спол.	Зайнятість PDE2 за 10 мг/кг	Шлях введення під час визначення зайнятості PDE2 за 10 мг/кг	Зайнятість PDE, ED ₅₀	Шлях введення під час визначення зайнятості ED ₅₀
195	-7 -13	PO SC		
196	0	PO		
197	8	PO		
220	-8	PO	>80	PO
223	19	PO		
224	-6	PO		
225	-6	PO		
227	18	SC		
228	92	SC	1,5	PO
231	-13	SC		
267	59	PO	11	PO
269	22	PO	24,2	PO
270	6	PO		
272	3	PO		
273	65	SC		
275	23	PO		
277	-4	PO		
278	30	PO		
281	57	PO	4,2	PO
282	47 47	PO PO	11,8	PO
283	-12	PO		
284	16	PO		
286	5	PO		
287	43	PO		
290	-3	PO		
291	38	PO		
292	23	PO		
293	6	PO		
294	17	PO		
295	71	PO	5,63	PO
296	88	PO		
297	-2	PO		
299	31	PO		
300	-11	PO		
301	-7	PO		
302	1	PO		
303	17	PO		
307	8	PO		
308	18	PO		
309	12	PO		
310	52	PO	9,6	PO
311	-1	PO		
312	-16	PO		
313	28	PO		
314	5	PO		
319	37	PO		
321	73	PO	3,37	PO
328	-18	PO		

Таблиця 6

PO=перорально; SC=підшкірно

№ спол.	Зайнятість PDE2 за 10 мг/кг	Шлях введення під час визначення зайнятості PDE2 за 10 мг/кг	Зайнятість PDE, ED ₅₀	Шлях введення під час визначення зайнятості ED ₅₀
332	8	PO		
334	17	PO		
335	88	PO	0,985	PO
339	-1	PO		
346	19	PO		
347	11	PO		
352	16	PO		
353	15	PO		
356	51	PO	5,55	PO
362	3	PO		
363	-11	PO		
364	-5	PO		
366	18	PO		
368	11	PO		
369	9	PO		
386	23	PO		
387	47	PO	11,8	PO
	47	PO		
391	3	PO		
392	46	PO		
398	29	PO		

ЕФЕКТ СПОЛУКИ 110 ЩОДО СИНАПТИЧНОЇ ПЕРЕДАЧІ

Важливі реагенти

Сахарозний буфер для препарування, що містить (у мМ) сахарозу (150), NaCl (40), KCl (4), NaH₂PO₄·H₂O (0,3), MgCl₂·6H₂O (7), NaHCO₃ (26), CaCl₂·2H₂O (0,5), D-глюкозу (10), урівноважений газовою сумішшю 95% O₂ та 5% CO₂. Штучна цереброспінальна рідина (ACSF), яку застосовували під час урівноваження та реєстрації, містила (у мМ): NaCl (124), KCl (2,7), NaH₂PO₄·H₂O (1,25), MgSO₄·7H₂O (1,3), NaHCO₃ (26), CaCl₂·2H₂O (2), D-глюкозу (10), аскорбінову кислоту (2), урівноважені газовою сумішшю 95% O₂ та 5% CO₂. ACSF одержували із CNQX та кінуреновою кислотою в концентрації 50 мкМ та 1 мМ відповідно. Тестові сполуки одержували безпосередньо перед застосуванням із вихідного розчину (з DMSO) в ACSF та з кінцевою концентрацією DMSO, що не перевищувала 0,1%. Усі реагенти були від Sigma-Aldrich, якщо не вказано інше.

Тварини (вид, вага та стать)

Використовуваними тваринами були самці щурів Спраг-Доулі з вагою у діапазоні 145-200 г, придбані у Charles River, Німеччина.

Одержання зрізів гіпокампа

Горизонтальні зрізи головного мозку (300 мкм) одержували із середньої-вентральної частини гіпокампа самців щурів Спраг-Доулі, яких анестезували ізофлураном згідно зі стандартним протоколом. Зрізи нарізали за допомогою вібраційного мікротому для тканин (Leica VT1200S) у холодному (4°C) сахарозному буфері для препарування зі швидкістю 0,1 мм/с. Після нарізання зрізи залишали для урівноваження за 35 °C протягом 20 хв., а потім забезпечували відновлення за к. т. протягом щонайменше однієї години у штучній цереброспінальній рідині (ACSF). Із одного головного мозку одержували від трьох до чотирьох зрізів.

Система тестування

Усі дані реєстрували за допомогою установки MEA, комерційно доступної від MultiChannel Systems MCS GmbH (Ройтлінген, Німеччина), що складається із 4-канального генератора імпульсів та 60-канального основного модуля з підсилювачем, приєднаного до 60-канальної плати A/D. Програмне забезпечення для стимуляції, реєстрації даних та аналізу являло собою комерційно доступне від Multi Channel Systems: MC Stim (II версія 2.0.0) та MC Rack (версія

3.8.1.0) відповідно. Усі експерименти проводили із застосуванням 3-мірної MEA (Ayanda Biosystems, S.A., CH-1015, Лозанна, Швейцарія), яка складалася із 60 електродів із загостреною формою та висотою 60 мкм, відстань між якими становила 100 мкм. Електроди MEA виготовлені із платини із опором у діапазоні 600 кОм - 900 кОм.

5 План експерименту

Ефект тестових сполук щодо синаптичної передачі досліджували шляхом реєстрації позаклітинних польових потенціалів у зрізах гіпокампа. Добре відомо, що синаптична передача може забезпечувати відхилення позаклітинного польового потенціалу, що відображає синхронну синаптичну активність у популяції нейронів, які оточують реєструвальний електрод.

10 Реєстрація даних позаклітинного польового потенціалу. Після відновлення зрізи головного мозку поміщали на чип MEA під мікроскопом та розміщували 60 реєструвальних електродів у ділянці синапса моховитих волокон (зубчата звивина - CA3) гіпокампа. Розчини ACSF безперервно перфузували зі швидкістю потоку 2 мл/хв. Температуру в камері MEA підтримували на рівні $32 \pm 0,1$ °C, при цьому елемент Пельтьє був розташований на основному модулі з підсилювачем MEA. Усі дані реєстрували за допомогою установки MEA, комерційно доступної від MultiChannel Systems MCS GmbH (Ройтлінген, Німеччина). Два сусідніх електроди в чипі вибирали для стимуляції моховитих волокон у ділянці хілуса зубчатої звивини та fEPSP реєстрували у термінальній зоні ділянки CA3 гіпокампа. Польові позаклітинні постсинаптичні потенціали (fEPSP) викликали шляхом стимуляції входу моховитих волокон за допомогою двох послідовних електричних імпульсів з інтервалом 30 мс та повторювали кожні 60 с (тривалість імпульсу становила 100 мкс, та сила стимулювального струму (мкА) становила 40% щодо максимальної амплітуди). Контрольні експерименти проводили одночасно зі зрізами, які довільним чином відносили до оброблюваних за допомогою середовища-носія (DMSO). N позначає число зрізів, та, як правило, 3-4 зрізи використовували із розрахунку на кожну тварину.

25 Викликані відповіді на рівні пост-синаптичних нейронів (fEPSP) реєстрували, якщо вони задовольняли визначені критерії якості, у тому числі: правильне розташування, стабільний фон (відхилення у межах $\pm 10\%$ протягом десяти послідовних хвилин, амплітуда >100 мкВ). Дані fEPSP від вибраних електродів збирали за 5 кГц та записували на жорсткий диск ПК для здійснення аналізу в режимі офлайн. Одночасно значення амплітуди fEPSP від вибраних електродів збирали у режимі реального часу (за допомогою програми MC Rack) для контролю та відстеження якості експерименту. Дані наносили на графік у файлі електронної таблиці для здійснення аналізу в режимі офлайн.

Слабку довготривалу потенціацію (LTP) викликали за допомогою однократного високочастотного стимулу (HFS) із забезпеченням меншої, ніж максимальна потенціація fEPSP.

35 Результати цього тесту показані на фігурі 1, що стосується ефекту сполуки 110, інгібітора PDE2, щодо сприяння індукції LTP за допомогою протоколу слабкої довготривалої потенціації.

ЕФЕКТ СПОЛУК 70, 25a I 220 (ВІЛЬНА ОСНОВА) ЩОДО СИНАПТИЧНОЇ ПЕРЕДАЧІ

Важливі реагенти

40 Сахарозний буфер для препарування, що містить (у мМ) NaCl (124), KCl (4,4), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,2), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2), D-глюкозу (10), урівноважений газовою сумішшю 95% O_2 та 5% CO_2 . Штучна цереброспінальна рідина (ACSF), яку застосовували під час урівноваження та реєстрації, містила (у мМ): NaCl (124), KCl (4,4), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,2), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2), D-глюкозу (10), аскорбінову кислоту (2), урівноважені газовою сумішшю 95% O_2 та 5% CO_2 . Сполуку 1, 2 і 3 одержували безпосередньо перед застосуванням із вихідного розчину (з DMSO) в ACSF та з кінцевою концентрацією DMSO, що не перевищувала 0,1%. Усі реагенти були від Sigma-Aldrich, якщо не вказано інше.

Тварини (вид, вага та стать)

Використовуваними тваринами були самці щурів Спраг-Доулі з вагою у діапазоні 145-200 г, придбані у Charles River, Німеччина.

50 Одержання зрізів гіпокампа

Щурів анестезували за допомогою ізофлурану та піддавали швидкій декапітації. Мозок поміщали поруч із агарозним блоком і горизонтально розрізали за допомогою леза, що рухається у напрямку від передньої до задньої частини. Зрізи нарізали до товщини 350 мкм із використанням вібраційного мікротому для тканин (Leica VT1200S) у холодній (4°C) насиченій діоксидом вуглецю штучній цереброспінальній рідині (ACSF) за швидкості 0,08 мм/с і амплітуди вібрації 0,75 мм. Після нарізання зрізи урівноважували за 35 °C протягом 20 хвилин, а потім забезпечували відновлення за кімнатної температури протягом щонайменше однієї години в ACSF. Зазвичай, одержували від шести до восьми зрізів з кожного мозку і від трьох до чотирьох застосовували в одному експерименті.

60 Система тестування

Усі дані записували за допомогою установки Slicemaster, комерційно доступної від Scientifica (Великобританія), що складалася з 4 реєструвальних станцій. Платиновий електрод для стимуляції, покритий Isonel, поміщали в ділянку CA3 гіпокампа щура. Реєструвальні мікроелектроди (опір приблизно 5 МОм) заповнювали за допомогою ACSF та поміщали в CA1 гіпокампа щура. Положення стимулювальних і реєструвальних електродів підтверджували шляхом застосування стимуляції струмом кожні 20 с. Застосовували попередній запис протягом 20 хв. для підтвердження стабілізації відповідей зрізів. Застосовували стимуляцію струмом за допомогою роз'єднувача струму A365 (World Precision Instruments). Дані одержували із застосуванням pClamp 10, з'єданого з платою збору даних Digidata 1440A (Molecular Devices, Санта-Кларита, Каліфорнія, США), за частоти реєстрації сигналів від зразків 10 кГц, з фільтруванням низьких частот за 1 кГц і фільтруванням високим частот за 3 Гц. Застосовували стимули тривалістю сто мкс, що знаходилися в діапазоні 0–100 мкА, для виклику fEPSP і визначали величину fEPSP шляхом вимірювання амплітуди негативного піка або 20–80% нахилу висхідної фази. Дані аналізували в режимі офлайн із застосуванням створених на замовлення алгоритмів у IGORpro (Wavemetrics).

План експерименту

Ефект сполук 70, 25а і 220 (вільна основа) щодо синаптичної передачі досліджували шляхом реєстрації позаклітинних польових потенціалів у зрізах гіпокампа. Добре відомо, що синаптична передача може забезпечувати відхилення позаклітинного польового потенціалу, що відображає синхронну синаптичну активність у популяції нейронів, які оточують реєструвальний електрод.

Реєстрація даних позаклітинного польового потенціалу. Після відновлення зрізи неперервно перфузували збагаченою киснем ACSF (2,5 мл/хв.). Розчин попередньо нагрівали на водяній бані перед подачею за допомогою насоса у реєструвальну камеру. Реєстрування здійснювали за 32 °С. Одночасно реєстрували fEPSP з чотирьох незалежних зрізів мозку. N позначає число зрізів, та, як правило, 3-4 зрізи використовували із розрахунку на кожну тварину. Викликані відповіді на рівні пост-синаптичних нейронів (fEPSP) реєстрували, якщо вони задовольняли визначені критерії якості, у тому числі: правильне розташування, стабільний фон (відхилення у межах +/- 10% протягом десяти послідовних хвилин, амплітуда >100 мкВ). Дані fEPSP від вибраних електродів збирали за 5 кГц та записували на жорсткий диск ПК для здійснення аналізу в режимі офлайн. Одночасно значення амплітуди fEPSP збирали у режимі реального часу (за допомогою pClamp) для контролю та відстеження якості експерименту. Дані наносили на графік у файлі електронної таблиці для здійснення аналізу в режимі офлайн.

Одержували криві даних вводу-виводу та силу стимулювання встановлювали на 50% від діапазону між мінімальним і максимальним fEPSP (визначену або як силу стимулювання, достатню для забезпечення популяційного спайка, або плато в амплітуді fEPSP). Потім для експериментів щодо LTP зрізи стимулювали кожні 60 с протягом 20 хв. початкового періоду (середовище-носії зі сполукою або без неї) та відразу після цього стимулювали за допомогою тета-імпульсної стимуляції (як показано на фігурі 2). Після тета-імпульсної стимуляції потім зрізи стимулювали кожні 60 с протягом 60 хв. для вимірювання рівня LTP.

Результати цього тесту показані на фігурі 3, що стосується ефекту сполуки 70, фігурі 4, що стосується ефекту сполуки 25а, та фігурі 5, що стосується ефекту сполуки 220 (вільна основа), щодо сприяння індукції LTP за допомогою протоколу слабкої довготривалої потенціації.

ДОСЛІДЖЕННЯ РК/PD ОДНОКРАТНОЇ ДОЗИ PDE2i НА СОБАКАХ

У цих дослідженнях використовували самиць та самців собак породи Marshall Beagle (1-6 років): 2 самці та 2 самиці з розрахунку на кожну групу обробки. Цереброспінальну рідину (CSF) відбирали за допомогою канюлі з направляючою голкою з бокового шлуночка головного мозку тварин, що знаходилися у свідомості, підключених до апарату.

Зразки CSF та крові на початковому рівні відбирали за 2-5 днів перед введенням дози. Тваринам не давали їжі протягом ночі та на наступний ранок вводили дозу натщесерце (перорально за допомогою зонда). У попередньо визначені періоди часу після введення дози збирали кров і/або CSF для вимірювання рівнів сполуки та cGMP. Аналіз cGMP виконували за допомогою LC-MS/MS: 25 мкл CSF розбавляли за допомогою 125 мкл штучної CSF (STIL (20 нг/мл)), центрифугували та вводили в колонку 25 мкл. Застосовувані системи являли собою: систему для UPLC Shimadzu SIL-30 (колонка Hypercarb (50 мм x 1 мм (3 мкм)), градієнт: водний розчин основи (10 мМ карбонату амонію)-ацетонітрил (від 5% до 98% за 5,5 хвилин) за швидкості потоку 250 мкл/хв.) та систему API Sciex 5500, обладнану джерелом ESI (селективний MRM перехід (маса/заряд 346,1->152,1 (час витримки 75 мс)). Результати цього дослідження узагальнені на фігурах 6-15.

ПІДВИЩЕННЯ СИНАПТИЧНОЇ ПЛАСТИЧНОСТІ ЗА ДОПОМОГОЮ ІНГІБУВАННЯ PDE2 У ЛАНЦЮГУ КОЛАТЕРАЛЕЙ ШАФФЕРА-CA1 ГІПОКАМПА У АНЕСТЕЗОВАНИХ ЩУРІВ: СИТУАЦІЙНИЙ ДОСЛІД ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ СПОЛУКИ 110

Введення

Синаптична пластичність є основоположним механізмом багатьох нейробіологічних функцій. Довготривала потенціація (LTP), тривале строге локалізоване збільшення сили синаптичного зв'язку в гіпокампі, а також корі головного мозку, являє собою синаптичну основу пам'яті та навчання (Cooke and Bliss, *Curr Opin Investig Drugs*. 2005;6(1):25-34). Збільшення та зменшення сили синаптичного зв'язку залежить від активності пресинаптичних та постсинаптичних нейронів, від того, як нейронні сітки головного мозку функціонують під час створення чуттєвого уявлення великої кількості об'єктів у пам'яті та одержання рухової відповіді. Різні ознаки цих синаптичних змін, в інтактному головному мозку, є критично важливими у функціонуванні різних типів нейронних сіток і функціонуванні декількох різних нейронних ланцюгів головного мозку. Таким чином, очікується, що LTP буде послабленою у випадку вікових психічних та нейродегенеративних розладів, як, наприклад, хвороба Альцгеймера (Bergado and Almaguer, *Neural Plast*. 2002;9(4):217-32; Rowan et al., *Biochem Soc Trans*. 2005;33: 563-7). Процедура, яка проводиться на тісно пов'язаних ділянках інтактного головного мозку тварин, що знаходяться під анестезією, є ефективним способом вивчення стійких змін щодо ефективної щільності та пластичності у ланцюгу гіпокамп-кора головного мозку після тетанічної електричної стимуляції із низькою та високою частотою, що доставляється одиничними або подвійними імпульсами (Albensi et al., *Exp Neurol*. 2007; 204A:1-13). Досліди допомагають розширити розуміння нейронних ланцюгів, які лежать в основі розвитку порушення сили синаптичного зв'язку, тобто визначити прямий шлях у ланцюзі та роль конкретної біологічної мішені, охопленої конкретними ділянками, в опосередкуванні послаблення синаптичного зв'язку. Процедура дозволяє тестувати фармакологічні засоби, метою яких є відновлення патологічної нейропластичності, наприклад, обернення розвитку дефектів LTP і щільності нейронних сіток шляхом підвищення ефективності синаптичної передачі, що, як очікується, має сприятливі ефекти щодо пов'язаних когнітивних і навчальних здібностей (Cooke and Bliss, 2005; Albensi et al., 2007).

Фосфодіестерази (PDE) являють собою клас ферментів, які відповідають за метаболічну інактивацію вторинних месенджерів, циклічного 3',5'-аденозинмонофосфату (cAMP) та циклічного 3',5'-гуанозинмонофосфату (cGMP) (Francis et al. *Physiol Rev*. 2011, 9: 651-90). Класифікували 11 родин PDE включно на основі їхньої структури, ферментативної активності та розповсюдження (Omori and Kotera *Circ Res*. 2007; 100:309-27). Роль PDE у підсиленні передачі сигналу за допомогою циклічних нуклеотидів робить ці ферменти привабливими мішенями для регуляції збуджуваності та підвищення ефектів взаємодії нейронів. У головному мозку PDE2 в основному експресується в корі головного мозку, гіпокампі та смугастому тілі, де він контролює гідроліз cAMP. За останні декілька років дослідницькі групи зосередились на розробці інгібіторів PDE2, націлених на зміну активності внутрішньоклітинних вторинних месенджерів, cGMP та cAMP, із впливом на пластичність та когнітивні процеси (Duinen et al., *Curr Pharm Des*. 2015; 21:3813-28; Gomez and Breitenbucher, *Bioorg Med Chem Lett*. 2013; 23: 6522-7; Xu et al., *Neurobiol Aging*. 2015; 36:955-70; Barco et al., *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7: 101-114).

У даному досліді вивчали те, чи приводить інгібування PDE2 за допомогою сполуки 110 до змін у збуджуваності або у здатності виявлення синаптичної потенціації у синапсах колатералей Шаффера-CA1 у анестезованих уретаном щурах Спраг-Доулі.

Матеріали та способи

Тварини

Дані експерименти проводили у суворій відповідності до інструкцій Міжнародної асоціації з атестації та акредитування утримання лабораторних тварин (AAALAC) та директиви Ради Європейських Співтовариств (86/609/ЕЕС) від 24-го листопада 1986 р., та їх затверджував локальний етичний комітет. Щурів Спраг-Доулі з вагою 170-200 г на момент проведення хірургічного втручання утримували групою у клітках із вентиляцією зі встановленим 12-годинним циклом світла/темряви (увімкнення світла в 07:00 ранку) після їхньої доставки у віварії та утримували в контрольованих умовах навколишнього середовища.

Хірургічне втручання та електрофізіологія

Щурів анестезували за допомогою внутрішньочеревної ін'єкції уретану в дозі 1,5 г/кг ваги тіла. Тваринам надягали стереотаксичну раму для вживлення електродів, і температуру їхнього тіла постійно контролювали за допомогою ректального зонда та підтримували на рівні 37 °C за допомогою електричної грілки. Додаткове введення уретану (0,2–0,5 г/кг) проводили у разі необхідності забезпечення повної анестезії. Два невеликих отвори (діаметром 1 мм) просвердлювали у черепі в місці розташування структур лівого гіпокампа для стимулювального

та реєструвального електродів. Біполярний стимулювальний електрод; пару скручених вольфрамових ниток (75 мкм), наконечники яких знаходяться у горизонтальній площині на відстані 0,125 мкм один від одного, розміщували на шляху колатералей Шаффера–комісуральних нервових волокон (SC) (AP -3,4, ML -2,5, DV від -1,9 до 2,4), і вольфрамовий реєструвальний електрод розміщували в Stratum Radiatum ділянки Cornu Ammonis (CA1) дорсального відділу гіпокампа (AP -4,2, ML -4,0, DV від -2,5 до 3,4) (фіг. 16а). Тверду оболонку головного мозку проколювали через обидва отвори та стимулювальний і реєструвальний електроди опускали дуже повільно (0,2 мм/хв.) через кору головного мозку та верхні шари гіпокампа в mPP та DG дорсального відділу гіпокампа. Під час хірургічного втручання докладали всіх зусиль, щоб мінімізувати страждання тварини.

Нахил польового збуджувального постсинаптичного потенціалу (fEPSP) використовували як міру збуджувальної синаптичної передачі. Одиничні монофазні прямокутні імпульси тривалістю 0,1 або 0,2 мс, які генеруються блоком живлення постійного струму (МС, Німеччина), застосовували, наприклад, щодо SC і викликані відповіді виникали у CA1. Сигнали внутрішньоклітинного польового потенціалу підсилювали; фільтрували за допомогою фільтру зі смугою пропускання від 1 Гц до 2 кГц, перетворювали на цифрову форму та здійснювали аналіз за допомогою замовленого програмного забезпечення. Електроди опускали доти, доки не спостерігали негативне відхилення fEPSP із максимальною відповіддю. Для забезпечення стабілізації збуджуваності перед вимірами надавалось не менше 30 хв. Потім подавали монофазні імпульси постійного струму за значень інтенсивності стимулу в діапазоні від 1 до 12 Вольт для одержання кривих даних вводу/виводу (I/O) та визначення максимальних значень нахилу fEPSP, і потім інтенсивність стимулу, яка забезпечувала 50% від максимальної відповіді (тобто контрольний імпульс), застосовували у наступних експериментах.

Індукція LTP. Після визначення кривих даних I/O потім застосовували тестову стимуляцію кожні 30 с перед і після тетанічної стимуляції. Для кожного моменту часу, вимірюваного під час експериментів, усереднювали п'ять записів викликаних відповідей за частоти 0,033 Гц. Початкову активність вимірювали кожні 5 хв. Протягом щонайменше 1 год. для забезпечення стабільного фону. Останні 30 хв. реєстрації початкового рівня (6 моментів часу), безпосередньо після застосування лікарського засобу усереднювали та застосовували як контроль для індукції LTP. Тетанізацію викликали за допомогою застосування протоколу височастотної стимуляції (HFS) 200 Гц, що складається з прямокутних імпульсів (тривалість стимулу 0,2 мс, 10 імпульсів для 20 стимулів, інтервал між імпульсами 2 с), з інтенсивністю стимулу, яка викликала нахил fEPSP, який становив приблизно 50% від максимальної відповіді. fEPSP реєстрували протягом 120 хв. після HFS для визначення можливих змін в синаптичній відповіді нейронів SC-CA1. Вимірювання LTP одержували зі співвідношень польового EPSP нормалізованого середнього нахилу, одержаного через 120 хв. після HFS, діленого на нормалізований середній нахил, зібраний за 30 хв. перед HFS. Нахил передбачуваного fEPSP вимірювали між кінцем артефакту стимулу та локальним мінімумом негативного піку. У 80% інтервалі між даними точками застосовували аналіз із застосуванням лінійного наближення за допомогою методу найменших квадратів для розрахунку нахилу EPSP.

Гістологія

Наприкінці електрофізіологічного дослідження проводили електричну стимуляцію із силою струму 500 мкА протягом 30 с із одержанням осередку враження у зоні наконечників стимулювального та реєструвального електродів і зразки головного мозку збирали для гістологічного підтвердження правильності розміщення електродів. Зрізи головного мозку (20 мкм) вивчали за допомогою світлового мікроскопу. Тварин із неправильним розміщенням електродів виключали із дослідження.

Сполуку 110 розчиняли в 20% циклодекстрину (CD)+1HCl. Для підшкірного введення сполуку 110 розчиняли в 20% CD+1HCl для досягнення кінцевих концентрацій 2 і 4 мг/мл.

Статистичний аналіз

Для кожної тварини стабільні відповіді на початковому рівні (до тетанусу) протягом 30 хв. усереднювали та середнє значення нормалізували, приймаючи за 100%, і дані відповіді після тетанусу виражали щодо середнього значення на початковому рівні. Порівняння ефектів середовища-носія та сполуки 110 після тетанусу проводили за 30-хвилинні інтервали із застосуванням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) і застосовували апостеріорний аналіз із найменшою достовірною різницею (LSD) для порівнянь груп.

Результати

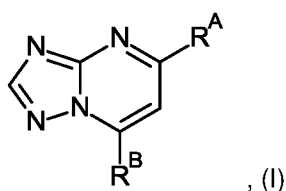
Не виявили відмінностей в нахилі fEPSP шляху SC-CA1 між групами дослідження I/O, що вказує на те, що збуджуваність клітин CA1 була подібна у всіх тварин (фіг. 16b, c). Базальна синаптична передача була посилена, оскільки виявили значні зміни між сполукою 110 (20 і 40

мг/кг) і контролем, обробленим середовищем-носієм, протягом початкового рівня до тетанусу (+8 та 9%, відповідно) (фіг. 16d, e). У межах парадигми індукції LTP підшкірне введення сполуки 110 (20 і 40 мг/кг) підвищувало стійку (>2 год.) синаптичну потенціацію (137±8% та 142±5% порівняно з рівнем для середовища-носія 119±4%, відповідно) (фіг. 16d, вставлений графік).
 5 Через 0-30 хв. після завершення тетанізації нахили fEPSP становили 153±5% і 155±4% порівняно з рівнем для середовища-носія, що становить 139±1%, $p < 0,05$. Щодо наступних 30 хв. інтервалів аналіз кривих стимул-відповідь виявив значуще стійке збільшення fEPSP з дозою 40 мг/кг (30-60 хв.: 146±6%, 60-90 хв.: 137±5% і 90-120 хв.: 129±5% порівняно з рівнями для середовища-носія 125±6, 116±9 та 106±13%, $p < 0,05$, відповідно). Загалом, сполука 110 сприяє базальній синаптичній передачі і LTP in vivo

Припустимі варіанти не слід розглядати як відхилення від обсягу даного винаходу. Буде очевидно, що фахівці в даній галузі можуть змінювати описаний таким чином винахід різними способами.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

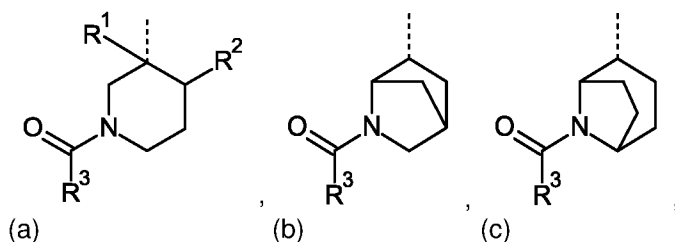
1. Сполука, що характеризується формулою (I):



або її стереоізомерна форма, де

R^A вибраний із групи, яка складається з H, CH_3 , CN і CHF_2 ;

R^B являє собою радикал, вибраний із групи, яка складається з (a), (b) і (c):



де

R^1 являє собою H, F або CH_3 ;

R^2 являє собою H або C_{1-4} алкіл, зокрема метил або н-бутил; за умови, що, якщо R^2 являє собою H, то R^1 являє собою F або CH_3 ;

R^3 являє собою Ar, Het або Ar-C_{2-4} алкеніл; де

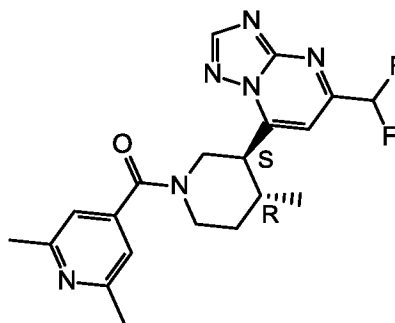
Ar являє собою феніл або нафтил, кожен із яких необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; CN; $\text{NR}^{2A}\text{R}^{2B}$, де кожен із R^{2A} і R^{2B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; OH; C_{1-6} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-6} алкілу, заміщеного CN; C_{3-6} циклоалкілу; C_{1-6} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та піразолілу; Het являє собою:

(i) 5-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1H-піролілу; тієнілу; фуранілу; 1H-піразолілу; 1H-імідазолілу; 1,2-оксазолілу; 1,3-оксазолілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; $\text{NR}^{3A}\text{R}^{3B}$, де кожен із R^{3A} і R^{3B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; та фуран-2-ілу; або

(ii) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; CN; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, де кожен із R^{4A} і R^{4B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково

заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-4} алкілу, заміщеного OH; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси; C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси- C_{1-4} алкілу; або

- (iii) 8-10-членний біциклічний частково ненасичений гетероцикліл, вибраний із групи, яка складається з 2,3-дигідро-1-бензофуранілу; 2H-хроменілу; 3,4-дигідро-2H-хроменілу; 2,3-дигідро-1H-індолілу, необов'язково заміщеного в положенні 1 C_{1-4} алкілом, метилсульфонілом, 1-ацетилом або фторацетилом; 2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолілу; 1,3-бензодіоксолілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою метил; 3,4-дигідро-2H-1,4-бензоксазинілу, необов'язково заміщеного C_{1-4} алкілом; 5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-а]піридинілу; 5,6,7,8-тетрагідрохінолінілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою атом галогену; та 2,3-дигідропіразоло[5,1-b][1,3]оксазолілу; або
- (iv) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1H-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1H-бензімідазолілу; імідазо[1,2-а]піридинілу; піразоло[1,5-а]піридинілу; 1H-тієно[2,3-с]піразолілу; імідазо[2,1-b]тіазолілу; піроло[2,3-с]піридинілу; тієно[3,2-b]піридинілу; хінолінілу; ізохінолінілу; хіноксалінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; $NR^{5A}R^{5B}$, де кожен із R^{5A} і R^{5B} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;



за умови, що сполука не являє собою сполуку
або її фармацевтично прийнятна сіль.

2. Сполука за п. 1, де

R^3 являє собою Ar або Het; де

Ar являє собою феніл, необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; CN; OH; C_{1-6} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{1-6} алкілу, заміщеного CN; C_{3-6} циклоалкілу та C_{1-6} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену;

Het являє собою:

- (i) 5-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1H-піролілу; тієнілу; фуранілу; 1H-піразолілу; 1H-імідазолілу; 1,2-оксазолілу; 1,3-оксазолілу та тіазолілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; $NR^{3a}R^{3b}$, де кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; та фуран-2-ілу; або
- (ii) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; CN; $NR^{4a}R^{4b}$, де кожен із R^{4a} і R^{4b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або
- (iii) 8-10-членний біциклічний частково ненасичений гетероцикліл, вибраний із групи, яка складається з 2,3-дигідро-1-бензофуранілу; 2H-хроменілу; 3,4-дигідро-2H-хроменілу; 2,3-дигідро-1H-індолілу, необов'язково заміщеного в положенні 1 C_{1-4} алкілом, метилсульфонілом, 1-ацетилом або фторацетилом; 2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолілу; 1,3-бензодіоксолілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою метил; 5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-

а]піридинілу; 5,6,7,8-тетрагідрохінолінілу, необов'язково заміщеного замісником, який являє собою атом галогену; та 2,3-дигідропіразоло[5,1-b][1,3]оксазолілу; або

(iv) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1Н-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1Н-бензімідазолілу; імідазо[1,2-а]піридинілу; піразоло[1,5-а]піридинілу; 1Н-тієно[2,3-с]піразолілу; тієно[3,2-б]піридинілу; хінолінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; $NR^{3a}R^{3b}$, де кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або її фармацевтично прийнятна сіль.

3. Сполука за п. 1 або 2, де R^A являє собою CH_3 або CHF_2 .

4. Сполука за будь-яким із пп. 1-3, де R^B являє собою (a) або (c).

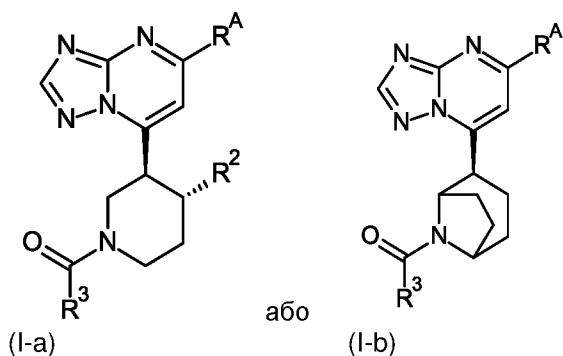
5. Сполука за будь-яким із пп. 1-4, де R^3 являє собою Het.

6. Сполука за будь-яким із пп. 1-5, де R^3 являє собою:

(i) 6-членний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з піридилу, піримідинілу, піразинілу та піридазинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1, 2 або 3 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; CN; $NR^{4a}R^{4b}$, де кожен із R^{4a} і R^{4b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; C_{3-6} циклоалкілу; C_{3-6} циклоалкілокси та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; або

(ii) 9-10-членний біциклічний гетероарил, вибраний із групи, яка складається з 1-бензофуранілу; 1-бензотіофенілу; 1Н-індолілу; 1,3-бензоксазолілу; 1,3-бензотіазолілу; індолізинілу; 1Н-бензімідазолілу; імідазо[1,2-а]піридинілу; піразоло[1,5-а]піридинілу; 1Н-тієно[2,3-с]піразолілу; тієно[3,2-б]піридинілу; хінолінілу; 1,8-нафтиридинілу та 1,6-нафтиридинілу; кожен із яких може бути необов'язково заміщений 1 або 2 замісниками, кожен із яких незалежно вибраний із групи, яка складається з галогену; OH; $NR^{3a}R^{3b}$, де кожен із R^{3a} і R^{3b} незалежно вибраний із H і CH_3 ; C_{1-4} алкілу, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену; та C_{1-4} алкілокси, необов'язково заміщеного 1, 2 або 3 незалежно вибраними замісниками, які являють собою атом галогену.

7. Сполука за будь-яким із пп. 1-6, яка характеризується формулою (I-a) або (I-b):



де R^A , R^2 та R^3 визначені в будь-якому з пп. 1-6.

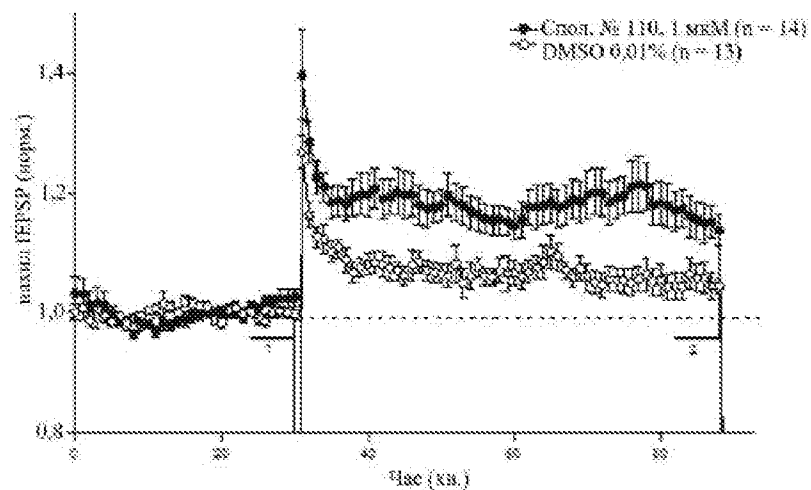
8. Фармацевтична композиція, яка містить терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким із пп. 1-7 і фармацевтично прийнятний носій.

9. Сполука за будь-яким із пп. 1-7 фармацевтичної композиції за п. 8 для застосування як лікарського препарату.

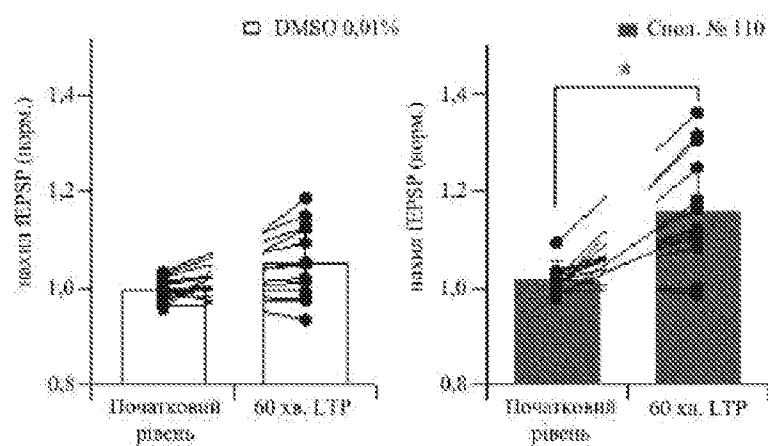
10. Сполука за будь-яким із пп. 1-7 або фармацевтична композиція за п. 8 для застосування у лікуванні або попередженні розладу центральної нервової системи, вибраного із групи психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; розладів, пов'язаних із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті; інсульту й аутичного розладу.

11. Сполука або фармацевтична композиція для застосування за п. 10, де психотичні розлади вибрані із групи шизофренії; шизофреноформного розладу; шизоафективного розладу; маніакального розладу; психотичного розладу, викликаного

- вживанням певних речовин; розладів особистості параноїдального типу та розладу особистості шизоїдного типу;
- тривожні розлади вибрані із групи панічного розладу; агарофобії; специфічної фобії; соціальної фобії; обсесивно-компульсивного розладу; посттравматичного стресового розладу; гострого стресового розладу та генералізованого тривожного розладу;
- рухові розлади вибрані із групи хвороби Хантінгтона та дискінезії; хвороби Паркінсона; синдрому неспокійних ніг та есенціального тремору; синдрому Туретта й інших тикових розладів;
- розлади, пов'язані зі вживанням певних речовин, вибрані із групи зловживання алкоголем; алкогольної залежності; алкогольного абстинентного синдрому; алкогольного абстинентного синдрому з делірієм, психотичного розладу, викликаного вживанням алкоголю; амфетамінової залежності; амфетамінового абстинентного синдрому; кокаїнової залежності; кокаїнового абстинентного синдрому; нікотинової залежності; нікотинowego абстинентного синдрому; опіоїдної залежності та опіоїдного абстинентного синдрому;
- афективні розлади вибрані з депресії; манії; біполярного розладу I типу, біполярного розладу II типу; циклотимічного розладу; дистимічного розладу; значного депресивного розладу; терапевтично резистентної депресії та афективного розладу, викликаного вживанням певних речовин;
- нейродегенеративні розлади вибрані із групи хвороби Паркінсона; хвороби Хантінгтона; деменції; хвороби Альцгеймера; мультиінфарктної деменції; СНІД-асоційованої деменції або лобно-скроневої деменції;
- розлади або стани, що включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності, вибрані із групи деменції, асоційованої із хворобою Альцгеймера; мультиінфарктної деменції; деменції, зумовленої хворобою із тільцями Леві; алкогольної деменції або стійкої деменції, викликані вживанням певних речовин; деменції, асоційованої із внутрішньочерепними пухлинами або черепно-мозковою травмою; деменції, асоційованої із хворобою Хантінгтона; деменції, асоційованої із хворобою Паркінсона; СНІД-асоційованої деменції; деменції внаслідок хвороби Піка; деменції, зумовленої хворобою Крейтцфельдта-Якоба; делірію; амнестичного розладу; посттравматичного стресового розладу; інсульту; прогресуючого над'ядерного паралічу; олігофренії; порушення здатності до навчання; синдрому дефіциту уваги та гіперактивності (ADHD); помірного когнітивного порушення; синдрому Аспергера; вікового когнітивного порушення та когнітивного порушення, пов'язаного зі сприйняттям, увагою, навчанням або пам'яттю;
- розлади, пов'язані із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті, вибрані з розладів пам'яті.
12. Спосіб одержання фармацевтичної композиції за п. 8, який характеризується тим, що фармацевтично прийнятний носій ретельно змішують із терапевтично ефективною кількістю сполуки за будь-яким із пп. 1-7.
13. Сполука за будь-яким із пп. 1-7 у комбінації з додатковим фармацевтичним засобом для застосування у лікуванні або попередженні стану, наведеного в будь-якому із пп. 10-11.
14. Продукт, що містить:
- (а) сполуку за будь-яким із пп. 1-7 та
- (b) додатковий фармацевтичний засіб,
- у вигляді комбінованого препарату для одночасного, роздільного або послідовного застосування у лікуванні або попередженні стану, наведеного в будь-якому із пп. 10-11.
15. Спосіб лікування розладу, вибраного із групи психотичних розладів і станів; тривожних розладів; рухових розладів; наркотичної залежності; афективних розладів; нейродегенеративних розладів; розладів або станів, які включають як симптом синдром дефіциту уваги та/або порушення пізнавальної діяльності; розладів, пов'язаних із запам'ятовуванням і консолідацією пам'яті; інсульту й аутичного розладу; який передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, терапевтично ефективною кількістю сполуки за будь-яким із пп. 1-7 або терапевтичної кількості фармацевтичної композиції за п. 8.

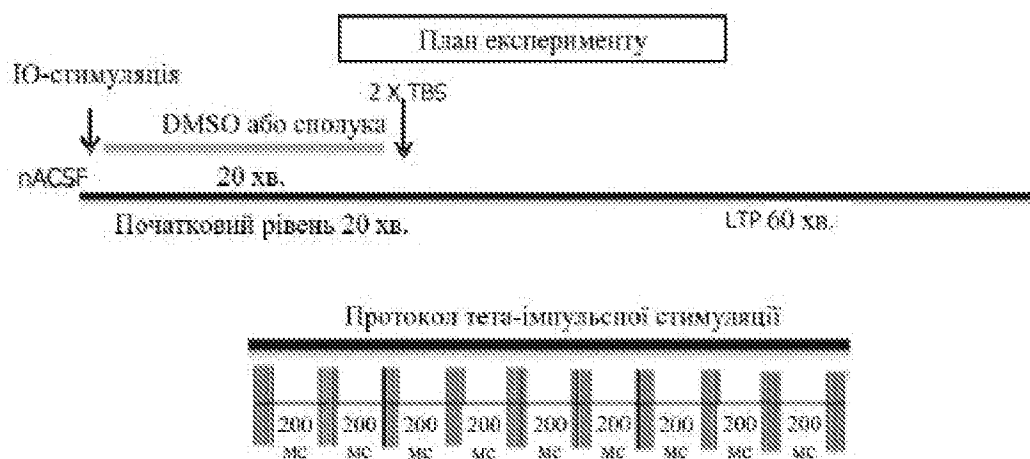


Фіг. 1а

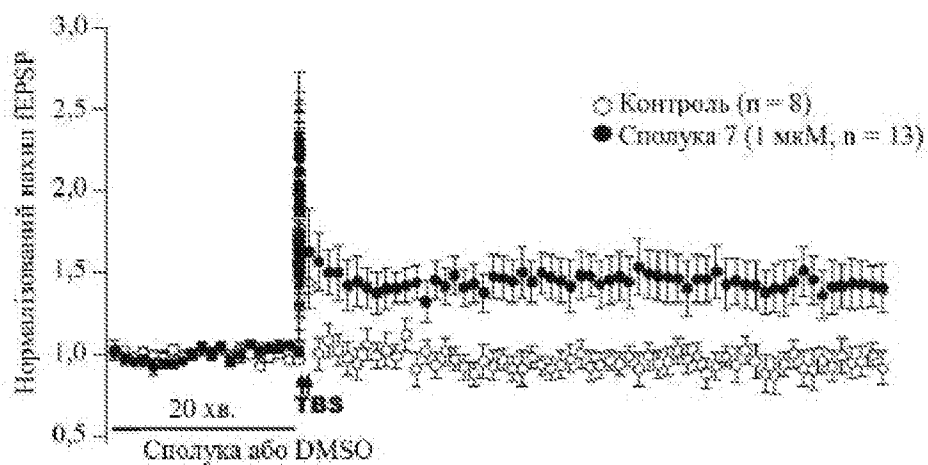


Фіг. 1b₁

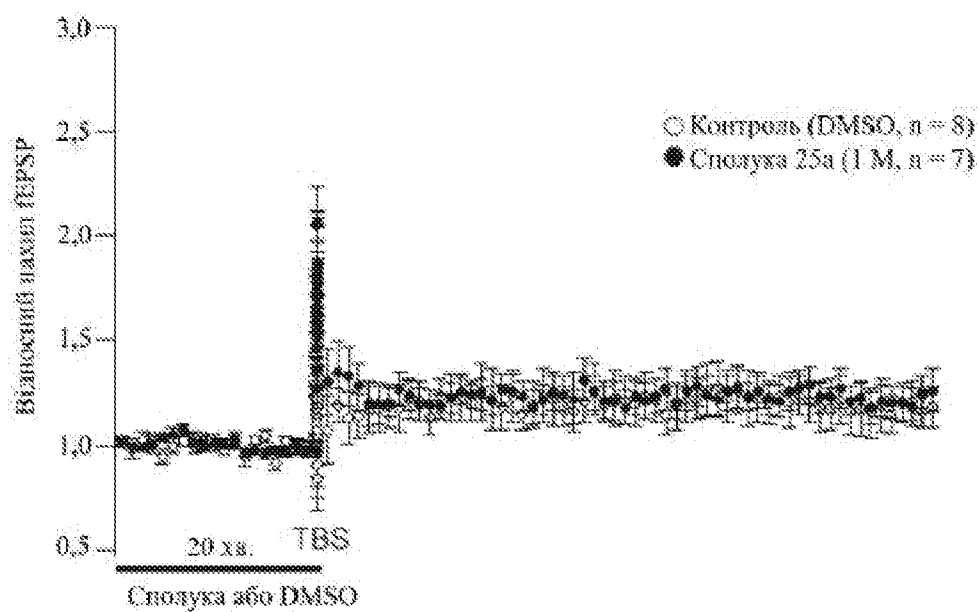
Фіг. 1b₂



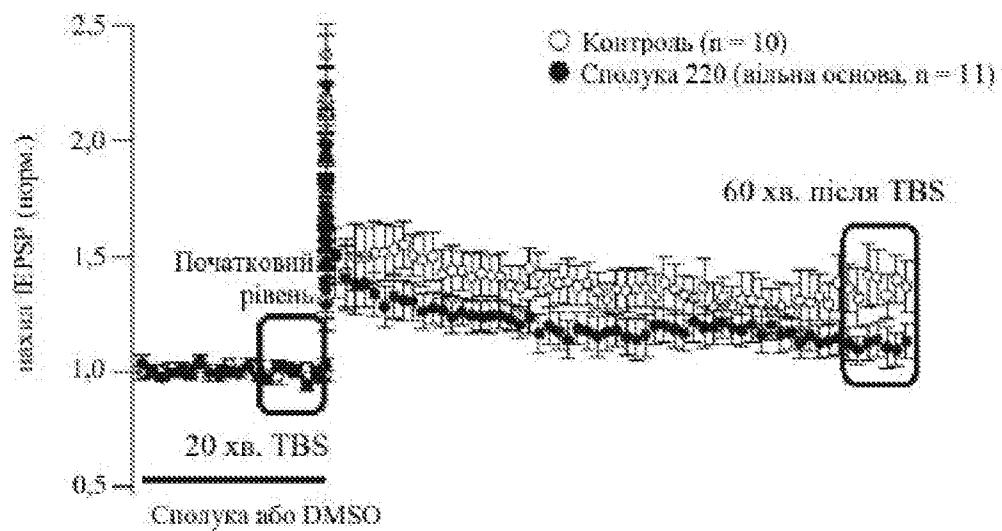
Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5

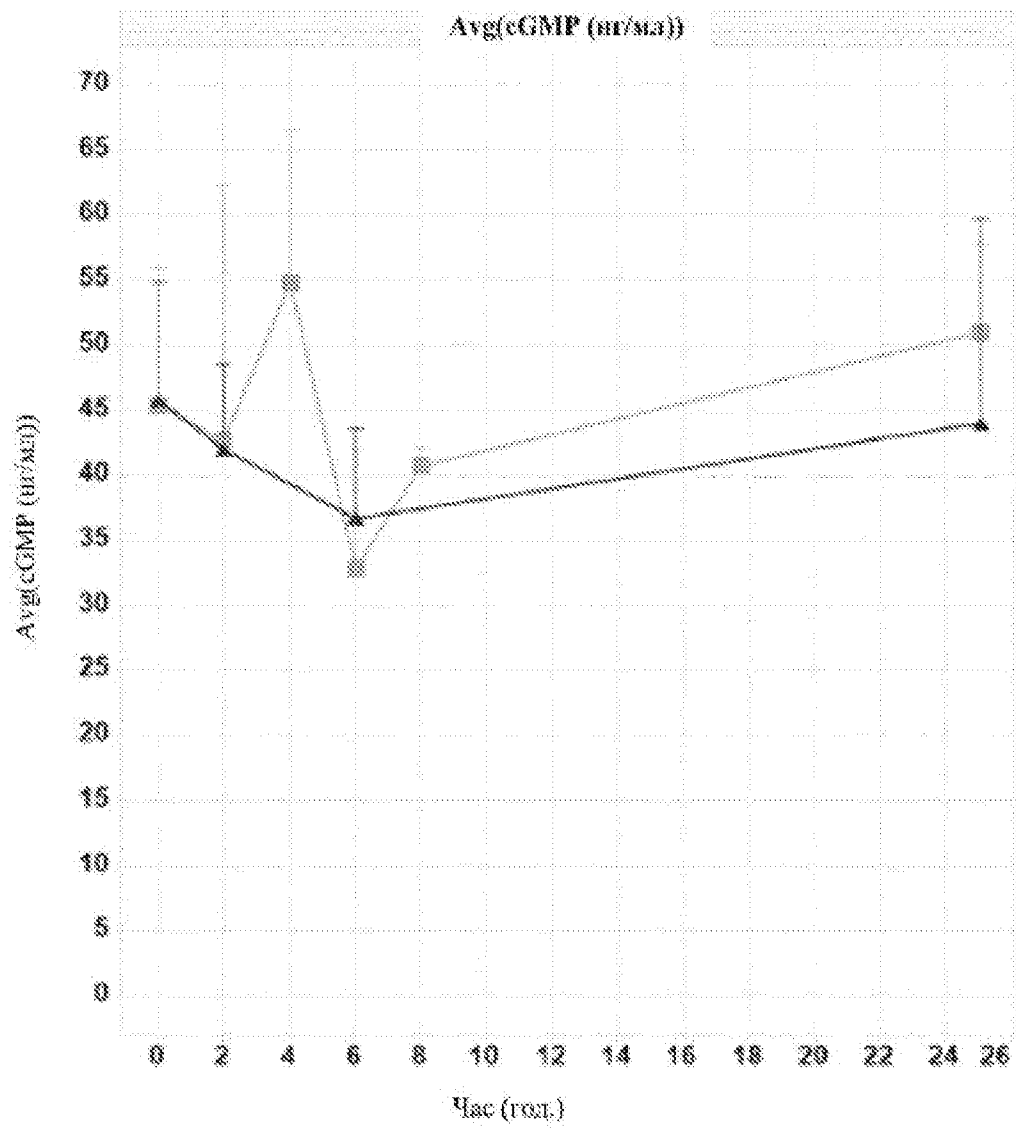


Fig. 6

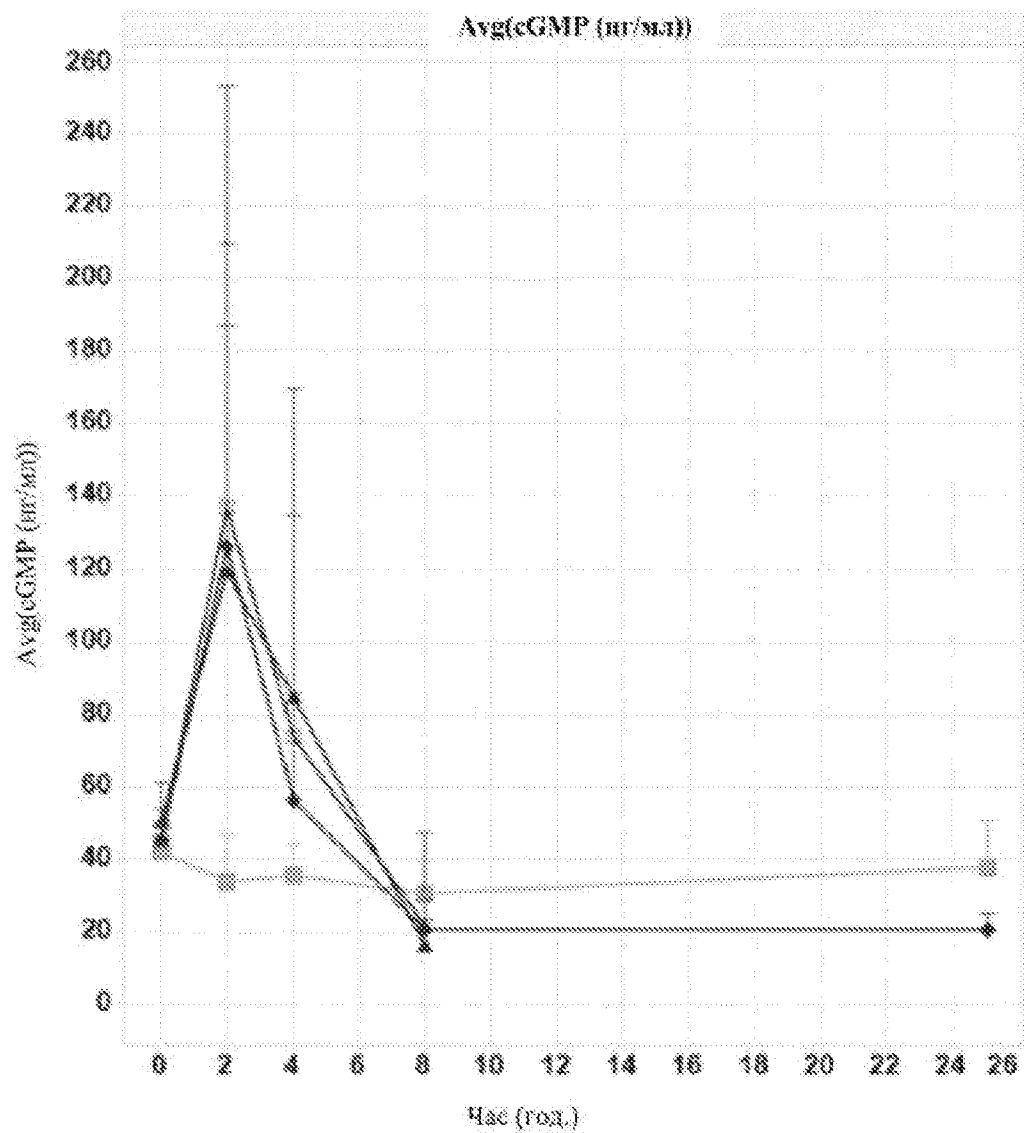


Fig. 7

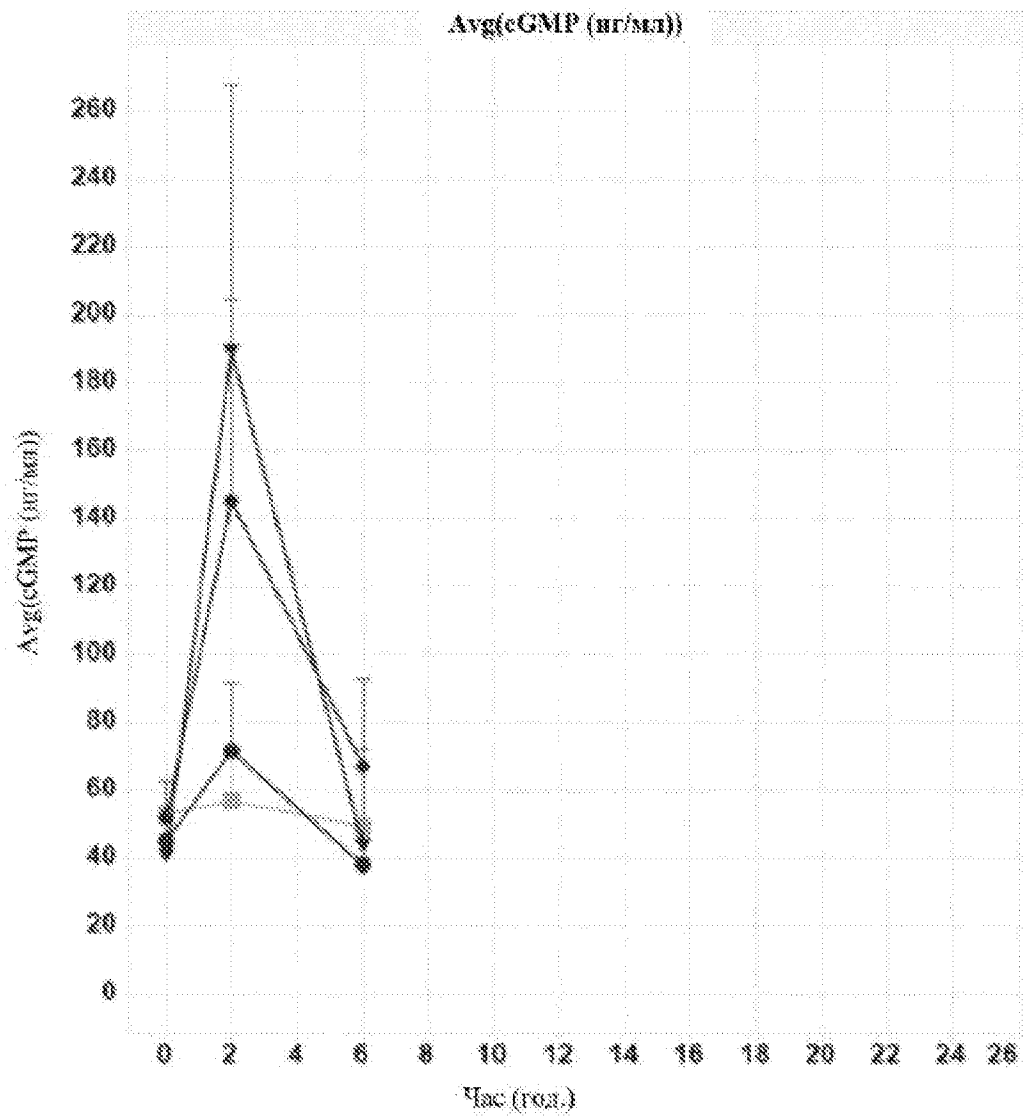


Fig. 8

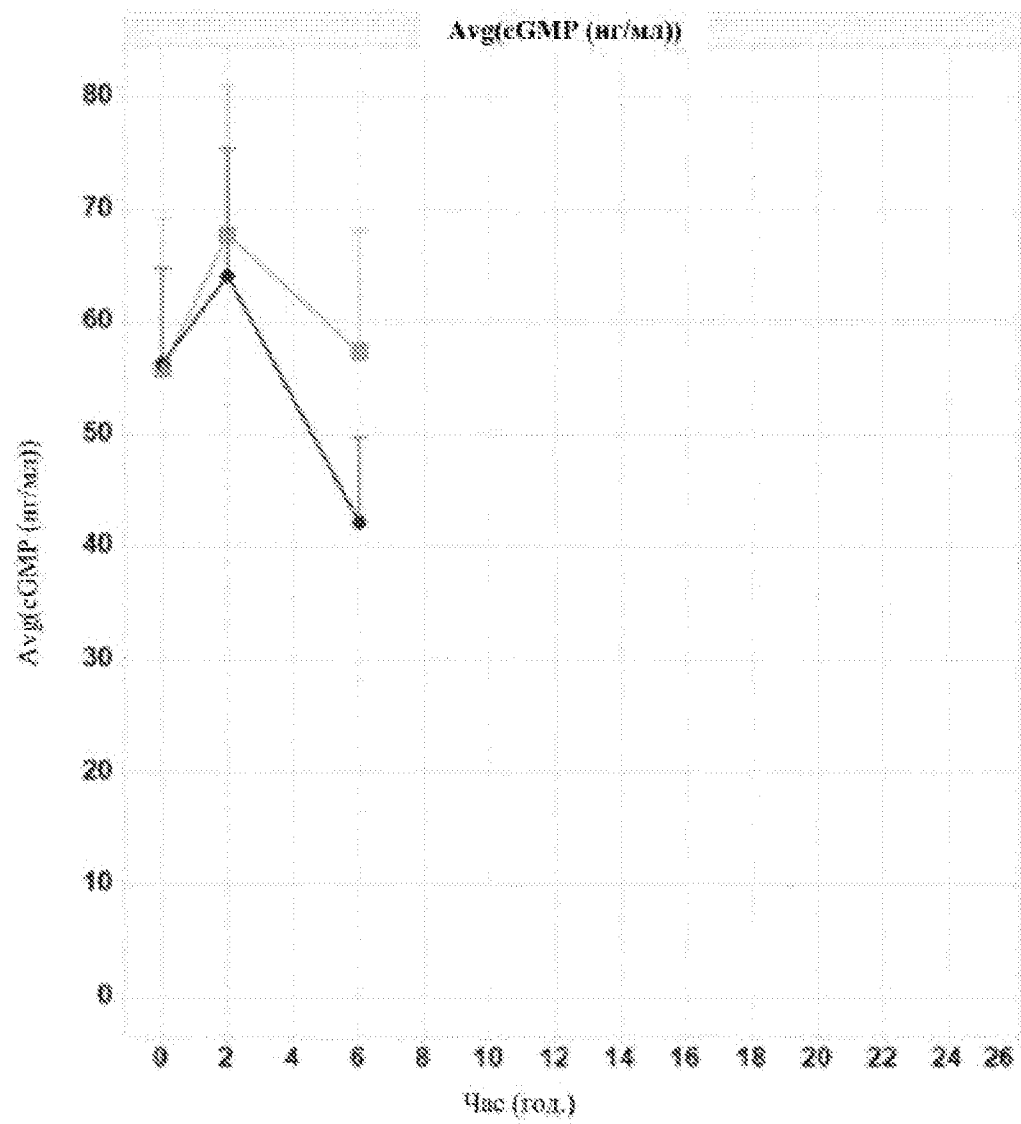


Fig. 9

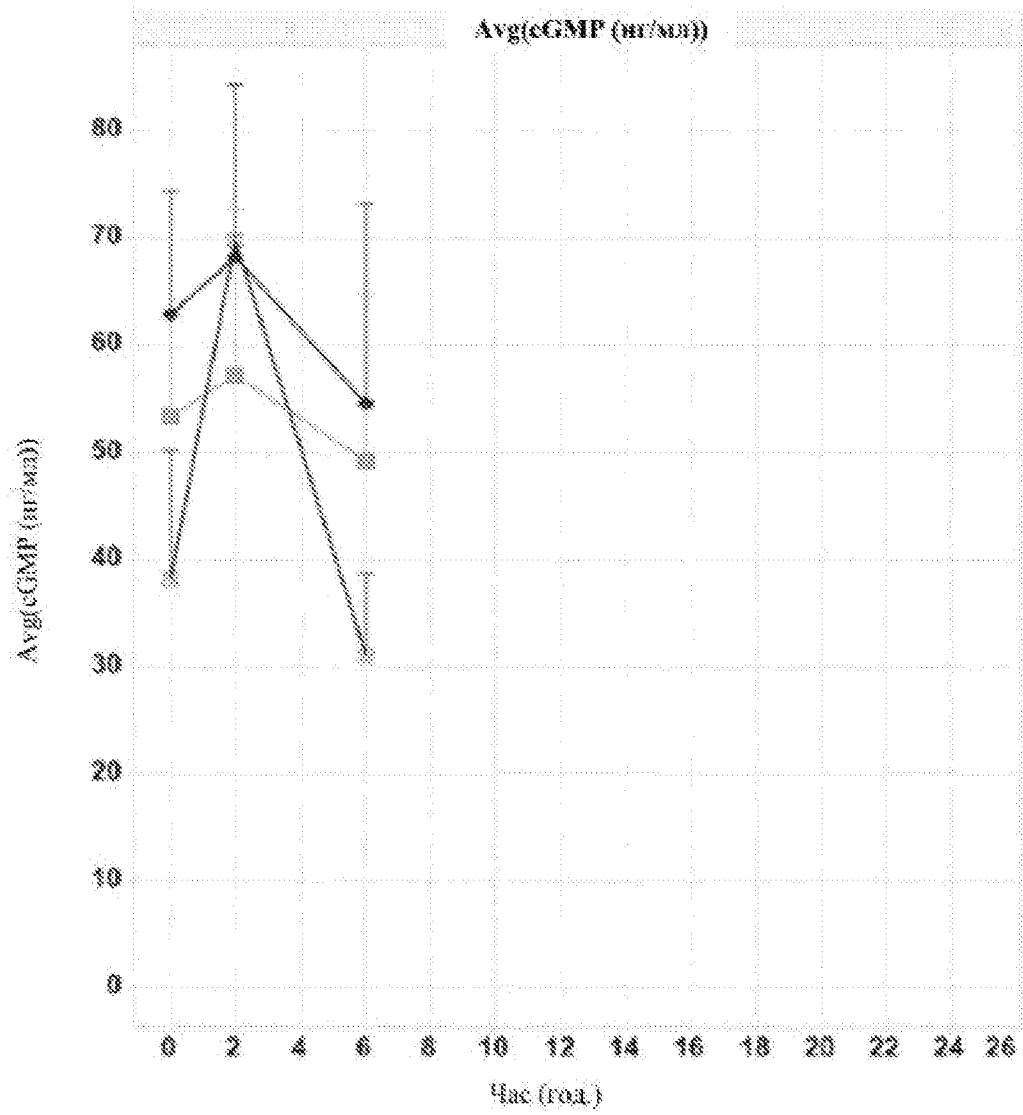


Fig. 10

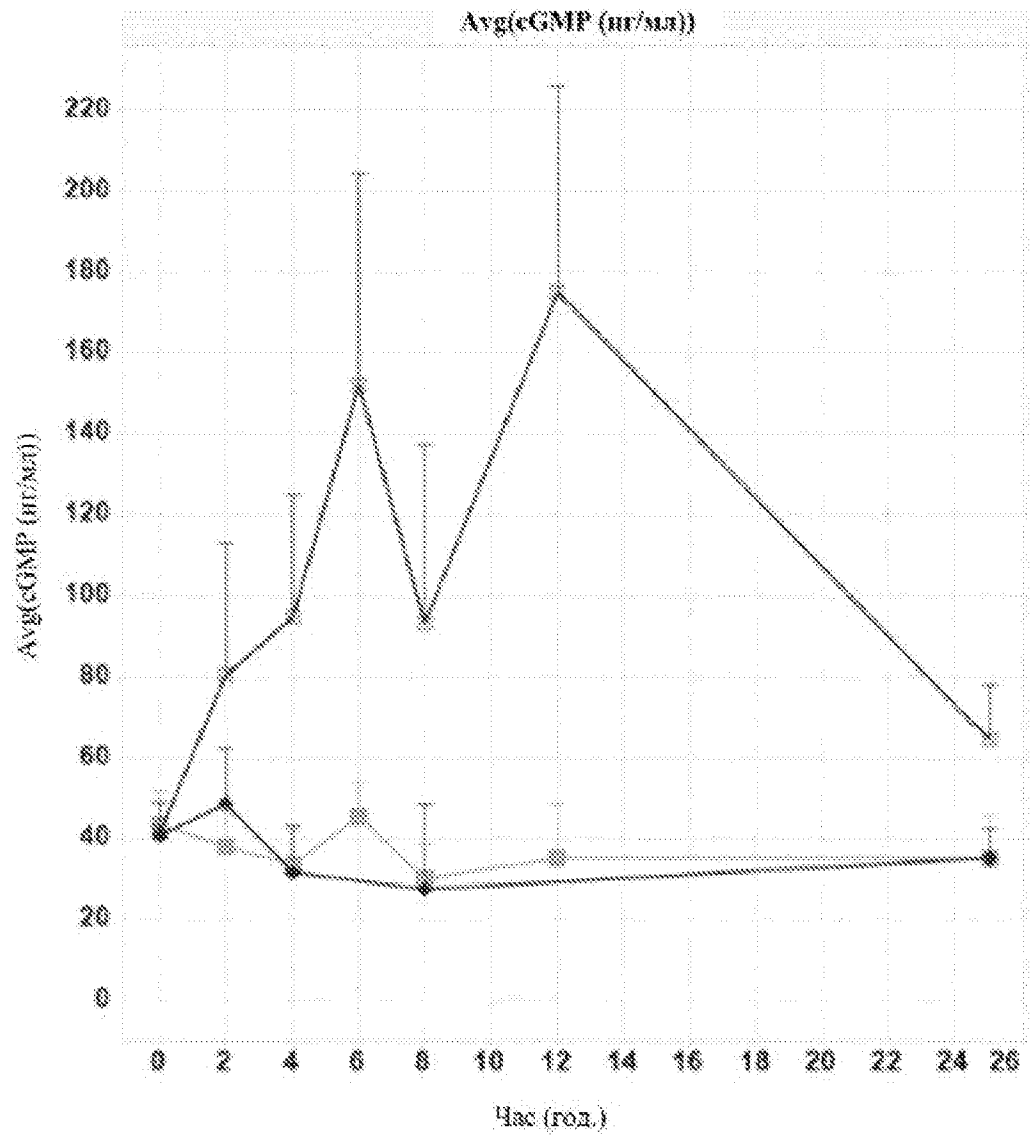


Fig. 11

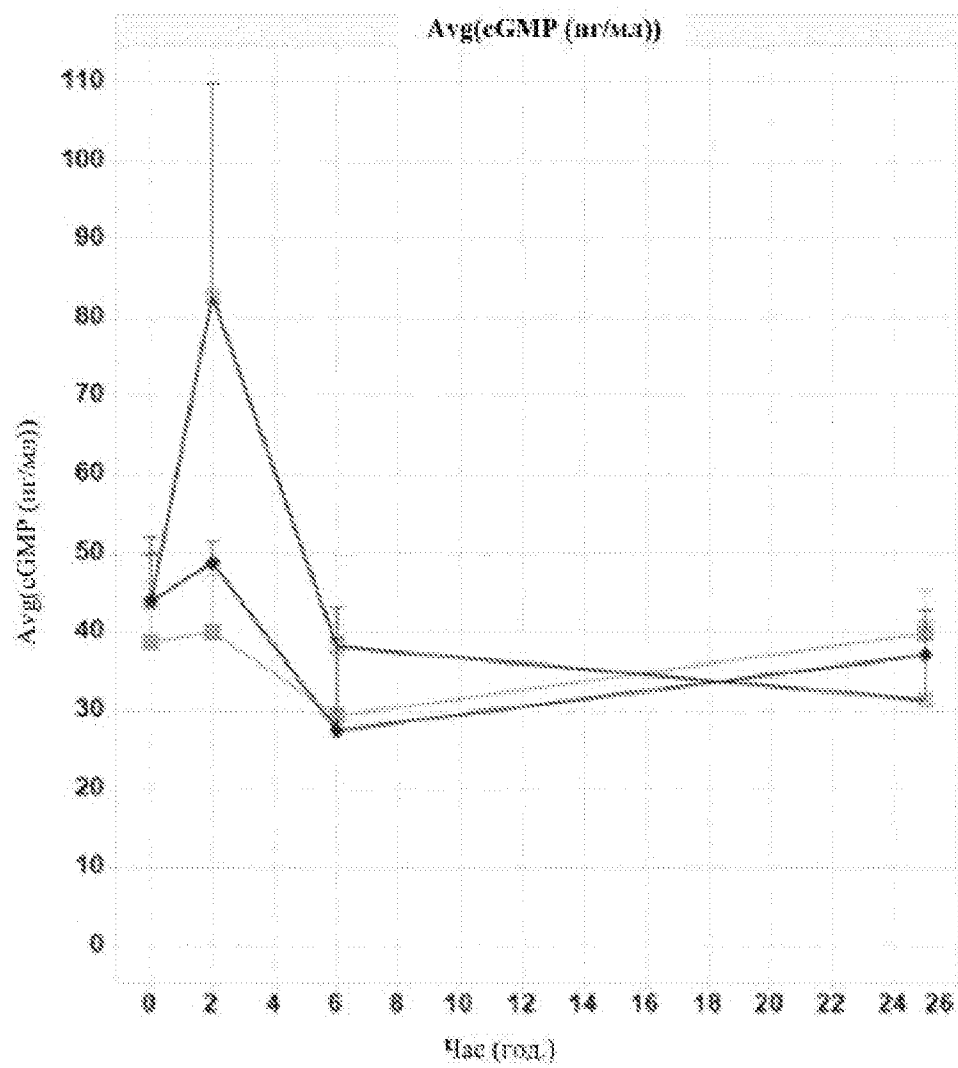
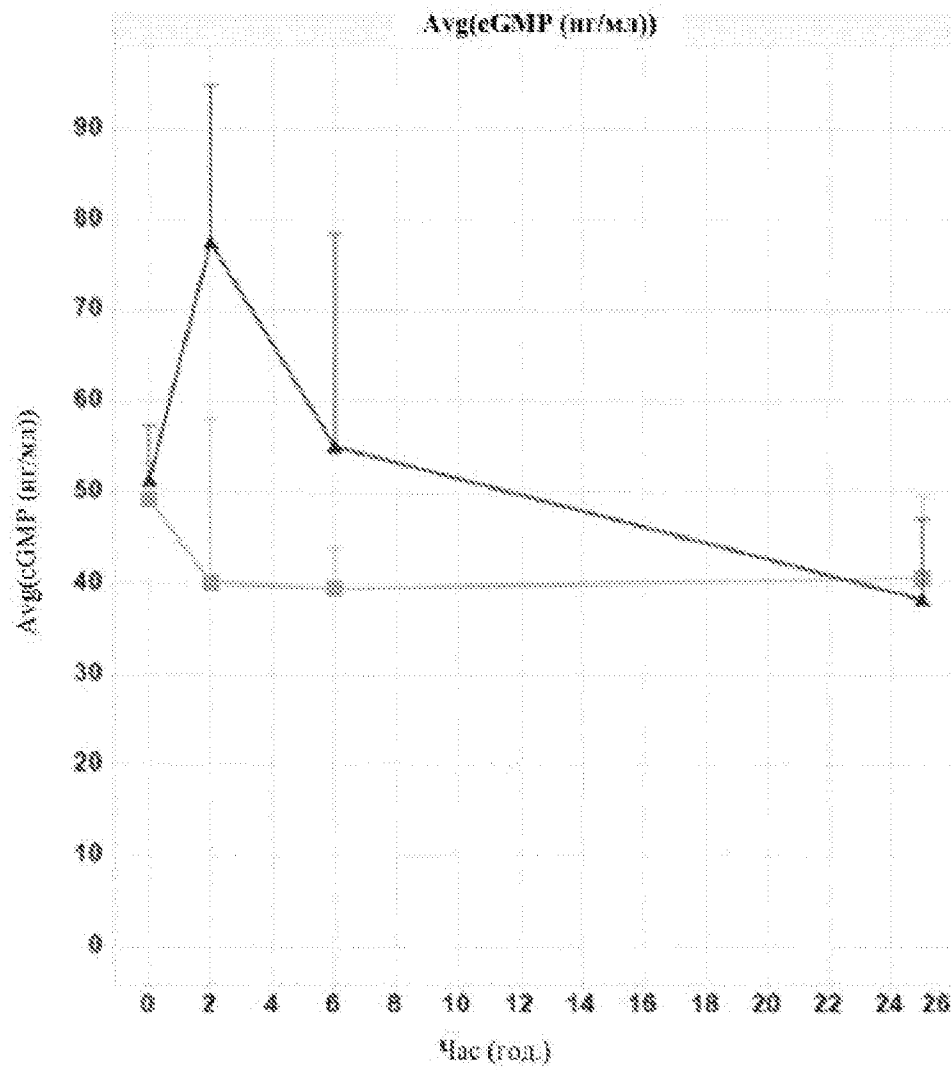


Fig. 12



Фиг. 13

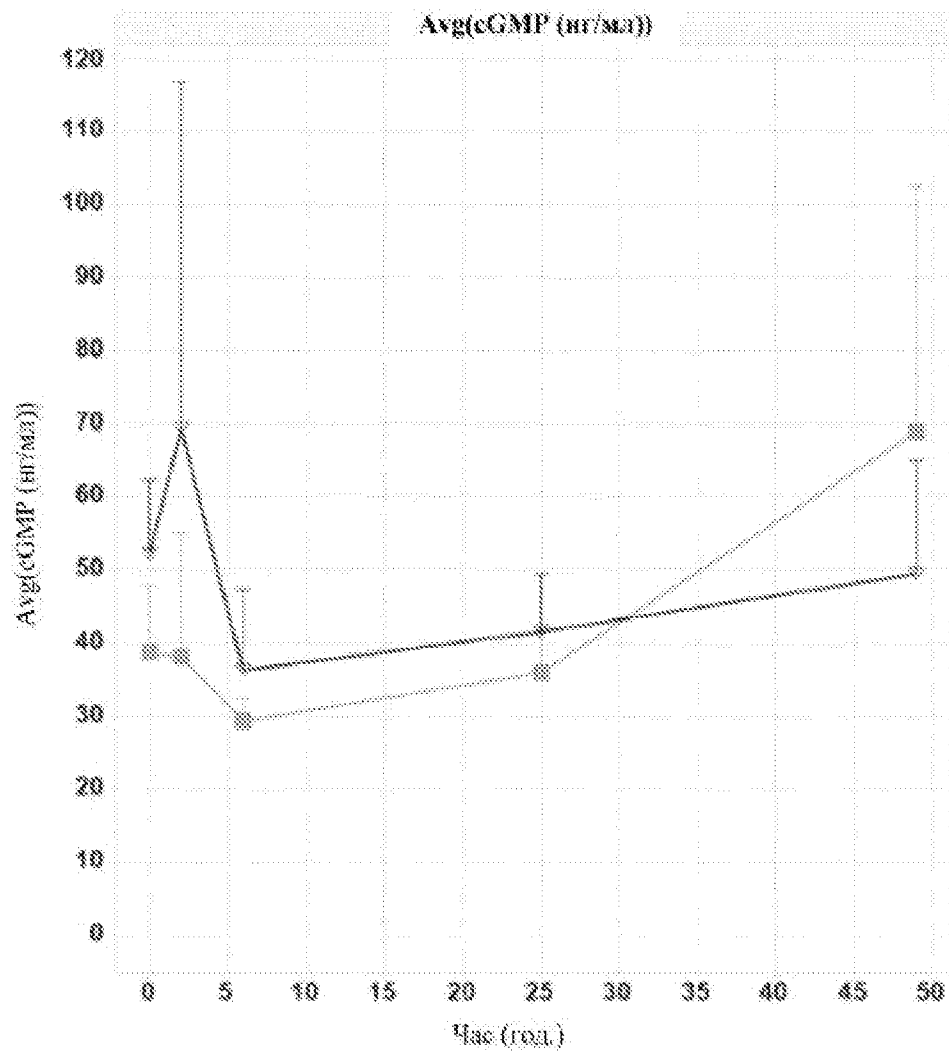
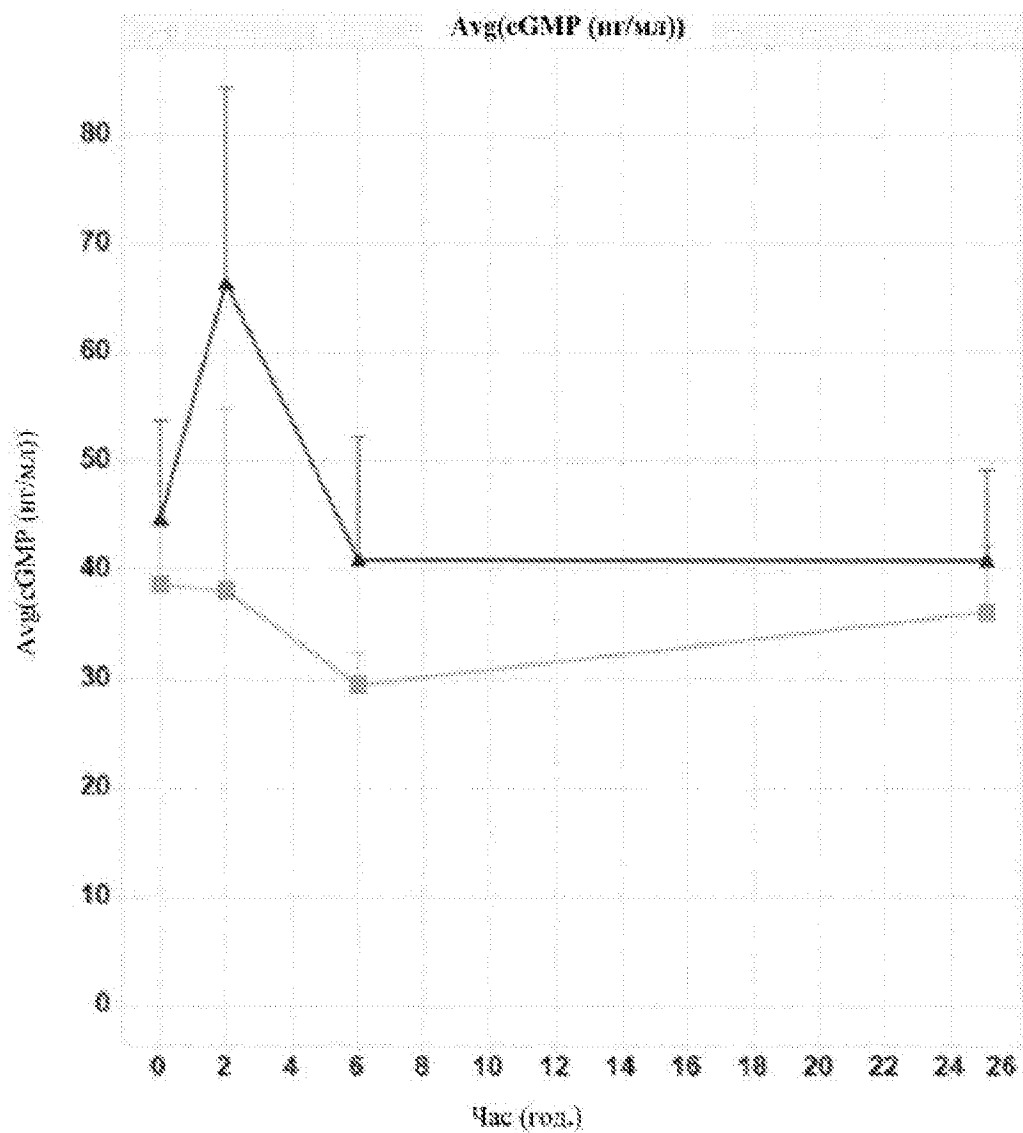
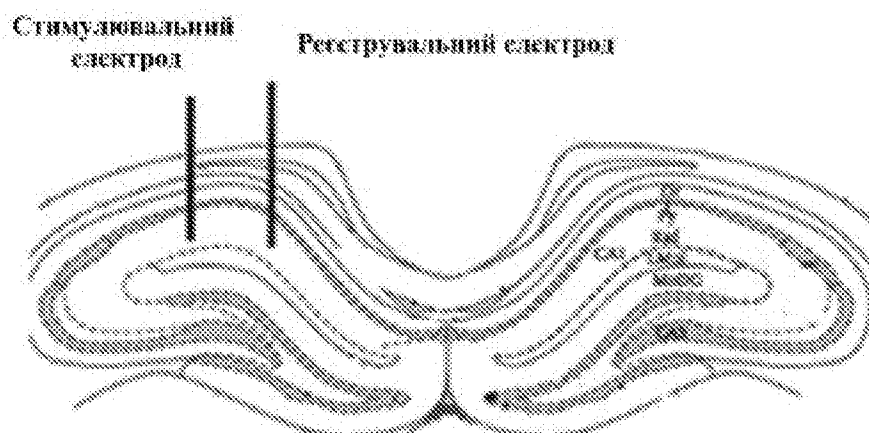


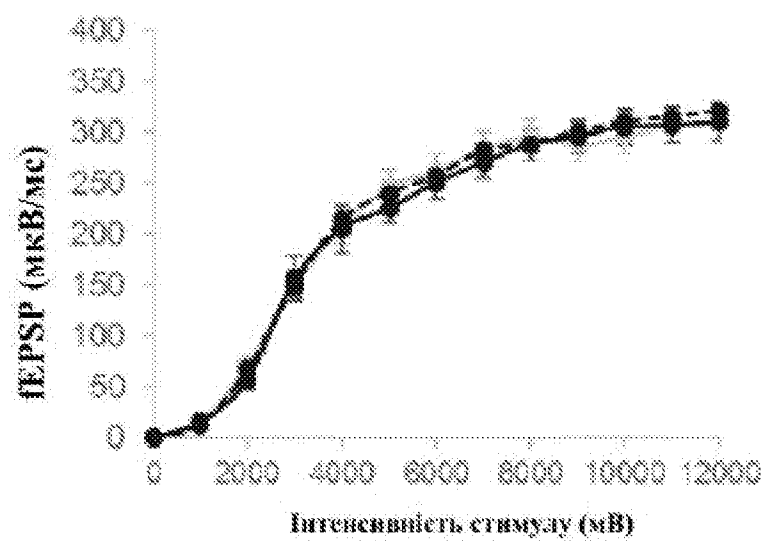
Fig. 14



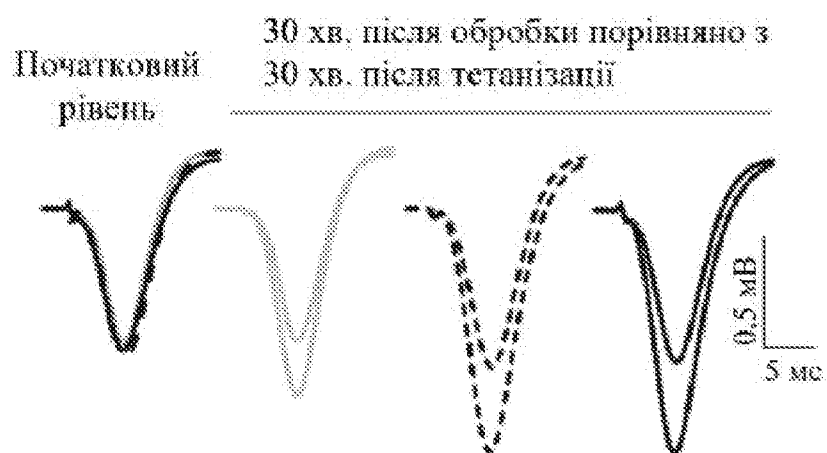
Фиг. 15



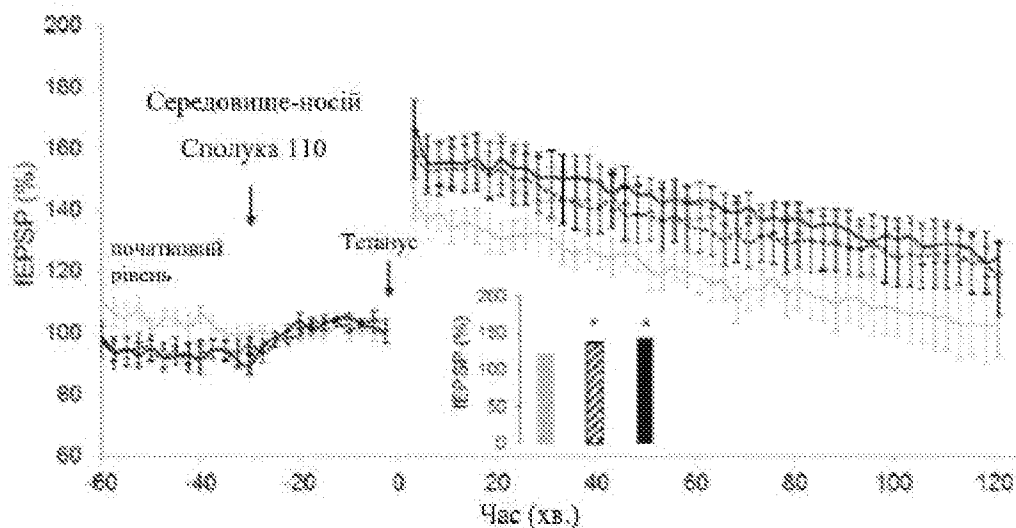
Фиг. 16a



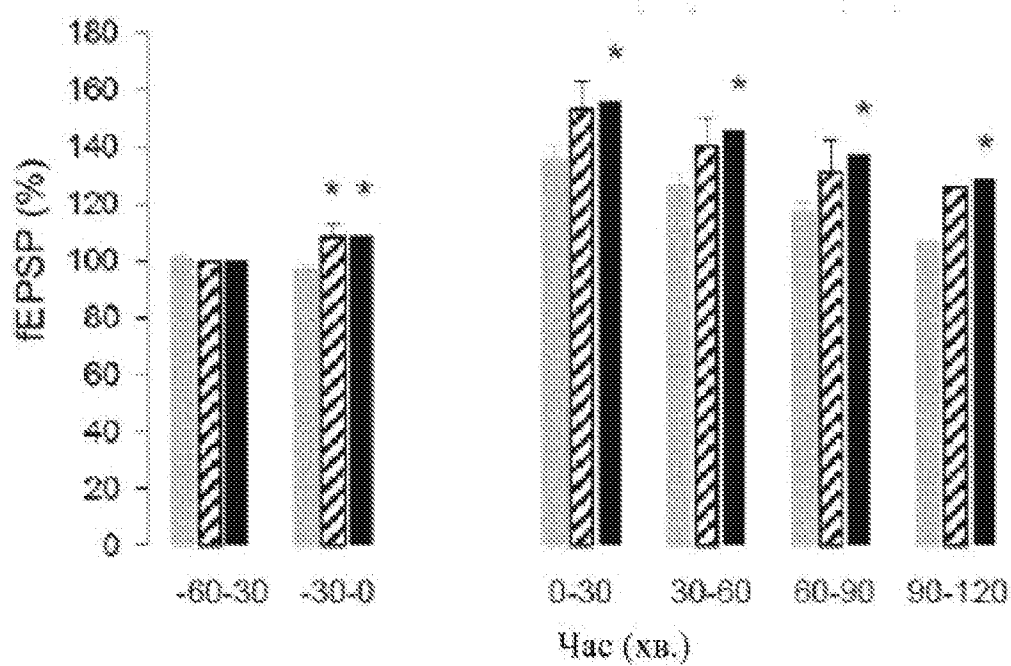
Фіг. 16b



Фіг. 16с



Фіг. 16d



Фіг. 16e