

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **033826**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.29

(21) Номер заявки
201890684

(22) Дата подачи заявки
2016.07.19

(51) Int. Cl. *C07D 401/14* (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 403/06 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 417/06 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/428 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

**(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ФТОРИНДОЛА В КАЧЕСТВЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ
АЛЛОСТЕРИЧЕСКИХ МОДУЛЯТОРОВ МУСКАРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА M1**

(31) 4809/CHE/2015

(32) 2015.09.10

(33) IN

(43) 2018.10.31

(86) PCT/IB2016/054290

(87) WO 2017/042643 2017.03.16

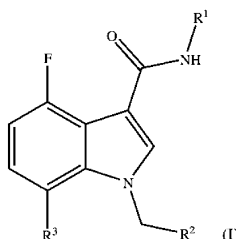
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СУВЕН ЛАЙФ САЙЕНСИЗ
ЛИМИТЕД (IN)**

(56) WO-A1-2015044072
WO-A1-2011084368
US-A1-2015094328

(72) Изобретатель:
**Нироджи Рамакришна, Схинде
Анил Карбхари, Мохаммед Абдул
Рашид, Субраманиан Рамкумар,
Бенаде Виджай Сидрам, Бхирапунени
Гопинадх, Джасти Венкатесварлу (IN)**

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

(57) Изобретение относится к соединению формулы (I) или его стереоизомерам и фармацевтически приемлемым солям в качестве положительных аллостерических модуляторов мускаринового рецептора M1. Это изобретение также относится к способам получения таких соединений и к фармацевтическим композициям, включающим такие соединения. Соединения согласно этому изобретению могут быть использованы в лечении различных нарушений, связанных с мускариновым рецептором M1 (формула I)

**B1****033826****033826****B1**

Область изобретения

Изобретение относится к соединениям формулы (I), или их изотопным формам, стереоизомерам или фармацевтически приемлемым солям, в качестве положительных аллостерических модуляторов мускаринового рецептора M1 (M1 PAMs). В изобретении также описан способ получения таких соединений, фармацевтические композиции, включающие такие соединения, и их применение.

Уровень техники

Мускариновые рецепторы ацетилхолина (mAChRs), которые принадлежат к классу А семейства связанных с G-белком рецепторов (GPCRs), широко экспрессируются по всему организму. Пять подтипов, названных M1-M5, отвечающих на эндогенный нейромедиатор ацетилхолин (ACh), были идентифицированы на сегодняшний день. Они играют главную роль в регуляции активности многих важных функций центральной и периферической нервной системы, включая когнитивную функцию. M1, M3 и M5 связываются с Gq, тогда как M2 и M4 связываются через Gi/o с даунстрим-сигнальными путями и ассоциированными эффекторными системами (Critical Reviews in Neurobiology, 1996, 10, 69-99; Pharmacology & Therapeutics, 2008, 117, 232-243). M2 и M3 высоко экспрессируются на периферии, и известно, что они участвуют в моторике желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и парасимпатических реакциях, таких как слюноотечение (Life Sciences, 1993, 52, 441-448). Мускариновый рецептор M1 преобладающе экспрессируется в таких отделах головного мозга как кора, гиппокамп и миндалевидное тело, участвующие в когнитивной деятельности, и поэтому ожидается, что селективная активация рецептора M1 повысит когнитивную производительность (Annals of Neurology, 2003, 54, 144-146).

Ксаномелин, агонист мускаринового рецептора ацетилхолина с приемлемой селективностью в отношении подтипов M1 и M4, показал значительное влияние на когнитивную функцию в клиническом тестировании болезни Альцгеймера (AD) (Alzheimer Disease and Associated Disorders, 1998, 12(4), 304-312), несмотря на то что побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта привели к высокому проценту отсеявшихся в клинических испытаниях. Существует высокая степень консервативности между подтипами мускаринового рецептора в их ортостерических участках связывания ацетилхолинового лиганда, мешающая идентифицировать селективный агонист M1.

Для того чтобы обойти эту проблему селективности и безопасности, дополнительный вариант состоит в разработке M1 PAMs, которые действуют в менее консервативном аллостерическом связывающем участке. Merck сообщил о разработке M1 PAM, PQCA (1-[[4-циано-4-(пиридин-2-ил)пиперидин-1-ил]метил]-4-оксо-4Н-хинолизин-3-карбоновой кислоты). Это соединение очень селективно в отношении M1 по сравнению с другими подтипами мускаринового рецептора, и было обнаружено, что оно является эффективным в нескольких преклинических моделях когнитивной функции (Psychopharmacology, 2013, 225(1), 21-30) без побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта в дозах, равных или меньших, чем пятикратная минимальная эффективная доза, необходимая для улучшения когнитивной функции. В преклинических исследованиях было продемонстрировано, что активация M1 увеличивает концентрацию нейромедиатора ацетилхолина в мозге. Кроме того, активация M1 имеет потенциал в качестве модифицирующей заболевание терапии для лечения AD как за счет смещения процессинга APP к неамилоидогенному пути α -секретазы, так и путем уменьшения гиперфосфорилирования tau. Положительные аллостерические модуляторы на рецепторе M1 продемонстрировали увеличение генерации sAPP α in vitro (The Journal of Neuro science, 2009, 29, 14271-14286). Поэтому M1 PAMs обеспечивают подход как для симптоматического, так и для модифицирующего заболевание лечения когнитивных расстройств в случае AD и шизофрении.

В публикациях заявок на патент PCT WO 2015049574 A1, WO 2015044072 A1, WO 2015028483, WO 2007067489 и WO 2011149801 раскрыты некоторые M1 PAM соединения. В заявке на патент PCT WO 2001058869 и патенте США US 4616009 раскрыты некоторые соединения индола, пригодные для использования в лекарственных средствах. Хотя несколько M1 PAMs были раскрыты в литературе, на настоящий момент на рынке не существует никакого лекарственного средства, действующего как M1 PAM.

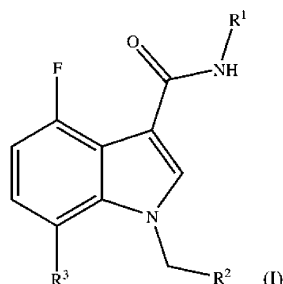
Для лекарственных с намеренным действием на центральную нервную систему (ЦНС) соединения должны преодолеть гематоэнцефалический барьер, или, другими словами, соединения должны обладать свойствами проникновения в мозг. Распространена гипотеза о том, что несвязанное, или свободное, лекарственное средство доступно для взаимодействия с фармакологическими и токсикологическими мишенями в мозге. Эта гипотеза упоминается как гипотеза свободного лекарственного средства в фармакокинетике (Current Opinion in Drug Discovery & Development, 2005, 8, 505-512; Expert Opinion on Drug Discovery, 2007, 2, 51-64; Pharmaceutical Research, 2008, 25, 1737-1750; Current Drug Metabolism, 2008, 9, 46-59; Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 99, 1107-1122).

Несмотря на то что в предшествующем уровне техники раскрыты M1 PAM соединения, которые могут быть использованы в лечении заболеваний, связанных с ЦНС, существует проблема плохого проникновения в мозг и доступности свободной фракции. Поэтому существует невосполненная потребность в открытии и разработке новых M1 PAMs с хорошим проникновением в мозг и соответствующей свободной фракцией. Такие соединения могут иметь эффективность в намного более низких дозах, таким образом, увеличивая коэффициент безопасности по отношению к эффективности дозы. M1 PAM соединения согласно настоящему изобретению решают проблему проникновения в мозг, а также доступности

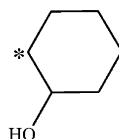
свободной фракции в мозге, и таким образом, являются очень эффективными при лечении нарушения, связанного с ЦНС.

Сущность изобретения

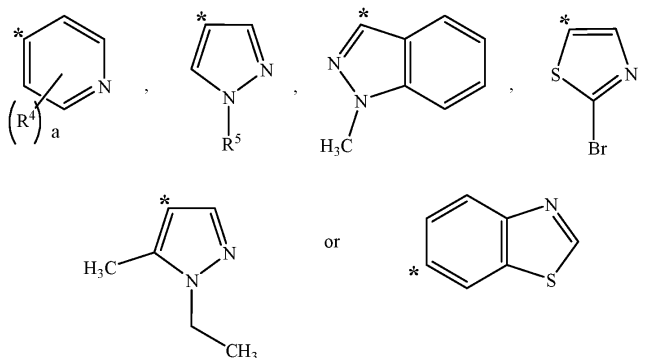
В первом аспекте изобретение относится к соединению формулы (I), являющемуся РАМ мускаринового рецептора M1



в которой
R¹ обозначает



R² обозначает



причем * обозначает точку присоединения;

R³ является фтором или водородом;

R⁴ является галогеном, -S-CH₃ или водородом;

R⁵ является -CH₃, -CH₂CH₂F или водородом; и

a=1 или 2;

или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способам получения соединения формулы (I) или его стереоизомера и фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения формулы (I) или его стереоизомера и фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемые эксципиенты или носители.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) или его стереоизомеру и фармацевтически приемлемой соли для применения в качестве M1 РАМ.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) или его стереоизомеру и фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении различных нарушений, выбранных из АД, шизофрении, когнитивных нарушений, боли или нарушений сна.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения нарушений, связанных с мускариновым рецептором M1, включающему введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его стереоизомера и фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I) или его стереоизомеров и фармацевтически приемлемых солей для получения лекарственного средства для лечения нарушений, связанных с мускариновым рецептором M1.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) для применения в положительной аллостерической модуляции мускаринового рецептора M1.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - эффект тестируемого соединения в контекстной задаче выработки условного рефлекса на

страх;

фиг. 2 - эффект тестируемого соединения на модуляцию мозгового кровообращения во фронтальной коре.

Подробное описание изобретения

Если не указано иное, следующие термины, используемые в описании и формуле изобретения, имеют значения, приведенные ниже.

Термин "галоген" означает фтор, хлор, бром или йод.

Фраза "терапевтически эффективное количество" определяется как количество соединения согласно настоящему изобретению, которое (i) лечит определенное заболевание, состояние или нарушение, (ii) устраняет один или несколько симптомов определенного заболевания, состояния или нарушения, (iii) задерживает появление одного или более симптомов определенного заболевания, состояния или нарушения, описанного здесь.

Термин "изотопная форма" в рамках изобретения отсылает к соединению формулы (I), в котором один или более атомов соединения формулы (I) заменены их соответствующими изотопами. Например, изотопы водорода включают ^2H (дейтерий) и ^3H (тритий).

Термин "стереоизомеры" в рамках изобретения относится к изомерам соединения формулы (I), отличающимся по расположению их атомов в пространстве. Соединения, раскрытые здесь, могут существовать как единственные стереоизомеры, рацематы и/или смеси энантиомеров и/или диастереомеров. Все такие единственные стереоизомеры, рацематы и их смеси находятся в рамках настоящего изобретения.

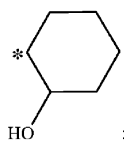
Термин "фармацевтически приемлемая соль" в рамках изобретения относится к солям активного соединения, т.е. соединения формулы I, и ее получают реакцией с подходящей кислотой или производным кислоты в зависимости от конкретных заместителей, находящихся на соединениях, описанных здесь.

В заявке на патент WO 2015044072 A1 раскрыты производные индола в качестве соединений M1 РАМ. На основе доступных данных *in vitro*, раскрытых в этом патенте, три из самых мощных соединений (пример номер 30, 76 и 77) были синтезированы в наших лабораториях и протестированы в отношении их фармакокинетических свойств и свойств проникновения в мозг у крыс Wistar. Было обнаружено, что все три соединения имели слабое проникновение в мозг. Это делает эти соединения менее идеальными для лечения расстройств центральной нервной системы. Соединения M1 РАМ согласно настоящему изобретению имеют проникновение в мозг и/или свободную фракцию, доступную в мозге, которые делают их полезными соединениями для дальнейшей разработки для лечения расстройств центральной нервной системы.

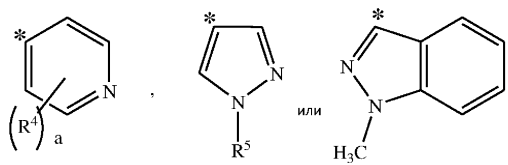
Варианты осуществления.

Настоящее изобретение охватывает все соединения, описанные соединением формулы (I), без ограничения, однако предпочтительные аспекты и элементы изобретения обсуждаются здесь в форме следующих вариантов осуществления.

В одном варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^1 обозначает

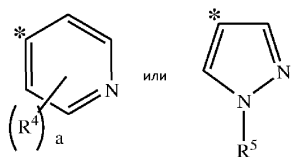


В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^2 обозначает



в которых * обозначает точку присоединения; R^4 , R^5 и a имеют значения, определенные в первом аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

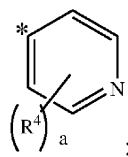
В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^2 обозначает



в которых * обозначает точку присоединения; R^4 , R^5 и a имеют значения, определенные в первом

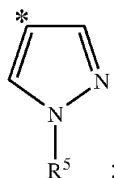
аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^2 обозначает



в котором * обозначает точку присоединения; R^4 и a имеют значения, определенные в первом аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

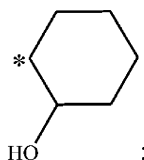
В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^2 обозначает



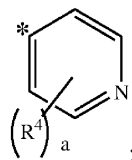
в котором * обозначает точку присоединения; R^5 имеет значения, определенные в первом аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^3 является фтором; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I), в которой R^1 обозначает



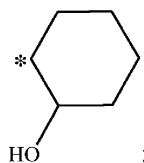
R^2 обозначает



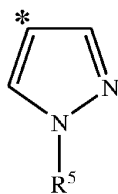
в которых * обозначает точку присоединения; R^4 и a имеют значения, определенные в первом аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), в которой

R^1 обозначает



R^2 обозначает



в которых * обозначает точку присоединения; R^5 имеет значения, определенные в первом аспекте; или к его изотопной форме, стереоизомеру или фармацевтически приемлемой соли.

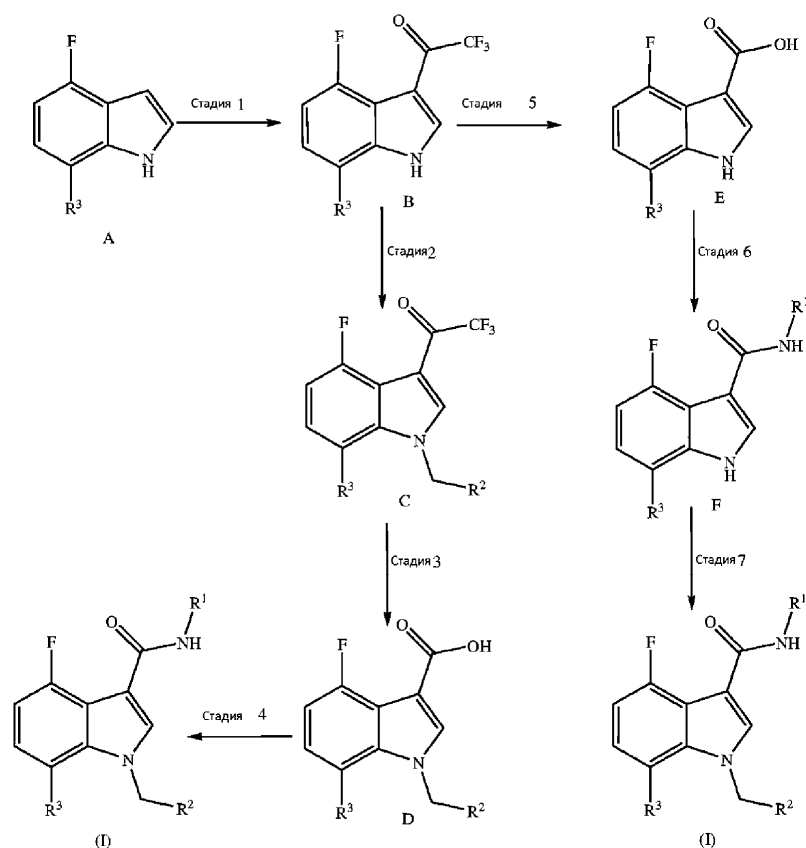
В еще одном варианте осуществления репрезентативные соединения согласно настоящему изобретению включают, но не ограничены ими, следующие соединения

N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-хлорпиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1R, 2R)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1Н-индазол-3-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-хлорпиридин-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторпиридин-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(3-фторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(5-фторпиридин-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2, 5-дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2, 5-дифторпиридин-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2, 3-дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-пиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-бромтиазол-5-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-этил-5-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(бензотиазол-6-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-(2-фторэтил)-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанил-пиридин-4-илметил)-4, 7-дифтор-1Н-индол-3-карбоксамид;
 N-[(1S, 2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанил-пиридин-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид;

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли. Способ получения соединения формулы (I) приведен на общих схемах 1 и 2, на которых всех группы имеют значения, определенные выше.

Общая схема 1 изображает способы получения соединения формулы (I), в которой R¹, R² и R³ имеют значения, определенные выше.

Общая схема-I



Стадия 1. Получение соединения формулы В.

Соединение формулы А вводят в реакцию с ангидридом трифторуксусной кислоты в растворителе, выбранном из DMF, при комнатной температуре в течение 2-4 ч для получения соединения формулы В.

Стадия 2. Получение соединения формулы С.

Соединение формулы В, полученное на стадии 1, вводят в реакцию с R^2CH_2 -галогеном или $R^2CH_2-O-SO_2-CH_3$ в присутствии карбоната калия, гидроксида натрия, карбоната цезия или трет-бутоксид калия в растворителе, выбранном из DMF, THF или ацетонитрила, в течение ночи при комнатной температуре для получения соединения формулы С.

Стадия 3. Получение соединения формулы D.

Соединение формулы С, полученное на стадии 2, вводят в реакцию с водным раствором гидроксида натрия или гидроксида калия при 50-70°C в течение 16-18 ч для получения соединения формулы D.

Стадия 4. Получение соединения формулы (I).

Соединением формулы D, полученное на стадии 3, вводят в реакцию сочетания с амином $R^1-NH_2.HCl$ в присутствии реагента для реакций сочетания, HATU, DCC или EDC и основания, DIPEA в растворителе, выбранном из DMF, THF, дихлорметана или 1,4-диоксана, при комнатной температуре в течение ночи для получения соединения формулы (I).

Стадия 5. Получение соединения формулы E.

Соединение формулы В, полученное на стадии 1, вводят в реакцию с водным раствором гидроксида натрия при 50-70°C в течение 16-18 ч для получения соединения формулы E.

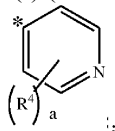
Стадия 6. Получение соединения формулы F.

Соединение формулы E, полученное на стадии 5, вводят в реакцию сочетания с амином $R^1-NH_2.HCl$ в присутствии реагента для реакций сочетания, HATU, DCC, или EDC и основания, DIPEA в растворителе, выбранном из DMF, THF, при комнатной температуре в течение ночи для получения соединения формулы F.

Стадия 7. Получение соединения формулы (I).

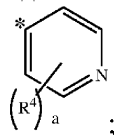
Соединение формулы F, полученное на стадии 6, вводят в реакцию с R^2CH_2 -галогеном или $R^2CH_2-O-SO_2-CH_3$ в присутствии карбоната калия и йодида калия в растворителе, выбранном из DMF, в течение ночи при комнатной температуре для получения соединения формулы (I).

Стадия 8. Получение соединения формулы (I) (в которой R^2 обозначает

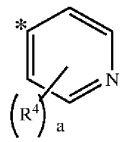


R^4 обозначает $-S-CH_3$).

Соединение формулы (I), полученное на стадиях 4 и 7 (в котором, R^2 обозначает



R^4 обозначает F), вводят в реакцию с тиометилатом натрия в растворителе, выбранном из DMF или THF, в диапазоне температур 55-65°C в течение 2-5 ч для получения соединения формулы (I) (в которой R^2 обозначает



R^4 обозначает -S-CH₃).

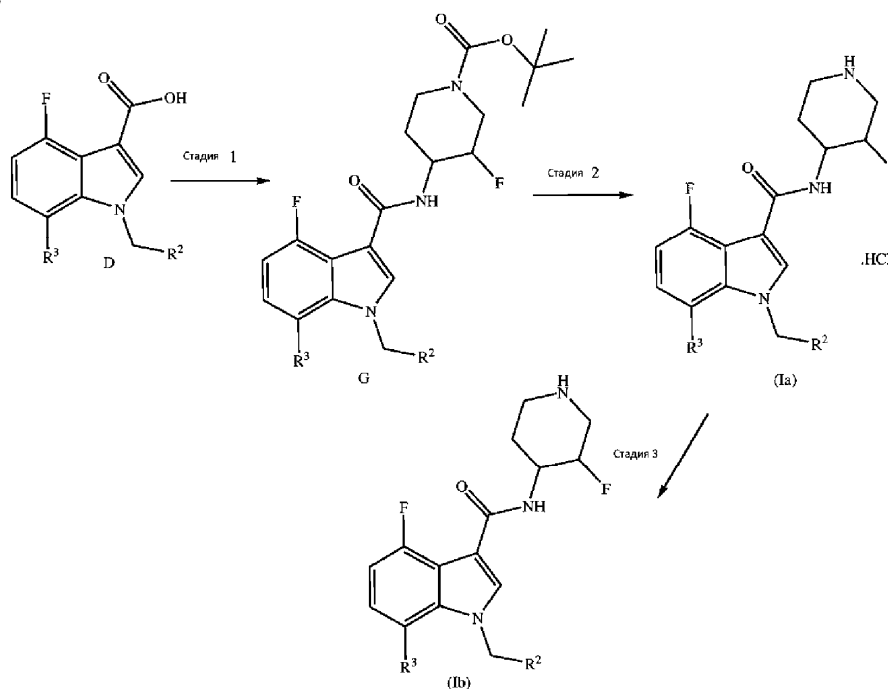
Получение фармацевтически приемлемой соли соединения формулы (I).

Соединение формулы (I) может в случае необходимости быть преобразовано в его фармацевтически приемлемую соль реакцией с подходящей кислотой или производным кислоты.

Подходящие фармацевтически приемлемые соли будут очевидны для специалиста в данной области техники. Соли могут быть образованы с неорганическими кислотами, например соляной, бромистоводородной, серной, азотной и фосфорной кислотой, или с органическими кислотами, например щавелевой, янтарной, малеиновой, уксусной, фумаровой, лимонной, яблочной, виннокаменной, бензойной, п-толуиловой, п-толуолсульфоновой, бензолсульфоновой кислотой, метансульфоновой или нафталинсульфоновой кислотой.

Схема 2 описывает способ получения соединения формулы (Ia) и (Ib), в которой R^2 и R^3 имеют значения, определенные выше.

Схема 2



Стадия 1. Получение соединения формулы G.

Соединение формулы D (приведенное на схеме 1) вводят в реакцию с трет-бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилатом путем осуществления процедуры, как описано на стадии 4 схемы 1, для получения соединения формулы G.

Стадия 2. Получение соединения формулы (Ia).

Соединение формулы G (полученное на предыдущей стадии) вводят в реакцию с эфирной HCl в растворителях, выбранных из DCM и т.п., в диапазоне температур 25-30°C в течение 2-4 ч для получения соединения формулы (Ia).

Стадия 3. Получение соединения формулы (Ib).

Соединение формулы (Ia) (полученное на предыдущей стадии) подвергали регулированию pH до 7-8 с использованием бикарбоната натрия в воде в диапазоне температур 5-10°C для получения соединения формулы (Ib).

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции соедине-

ния формулы (I). Для использования соединения формулы (I) или его стереоизомеров и фармацевтически приемлемых солей в терапии, их обычно составляют в фармацевтическую композицию в соответствии со стандартной фармацевтической практикой.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть составлены стандартным образом с использованием одного или более фармацевтически приемлемых эксципиентов. Фармацевтически приемлемый эксципиент является носителем или разбавителем. Таким образом, активные соединения по изобретению могут быть составлены для перорального введения. Такие фармацевтические композиции и способы их получения известны в данной области техники.

Доза активных соединений может варьировать в зависимости от таких факторов как возраст и масса тела пациента, природа и серьезность заболевания, подвергаемого лечению, и других таких факторов. Поэтому любая ссылка относительно фармакологически эффективного количества соединений общей формулы (I), их стереоизомеров и фармацевтически приемлемых солей относится к вышеупомянутым факторам.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения нарушений, связанных с мускариновыми рецепторами M1.

В другом варианте осуществления нарушения, связанные с мускариновыми рецепторами M1, выбраны из группы, состоящей из AD, шизофрении, когнитивных нарушений, боли или нарушений сна.

Коммерческие реактивы использовались без дополнительной очистки. RT определяют как диапазон температур окружающей среды, как правило от 25 до 35°C. Все масс-спектры были получены с использованием условий ESI, если не указано иное. Спектры ¹H-ЯМР регистрировали при 400 МГц на инструменте Bruker. Дейтеризованный хлороформ, метанол или диметил сульфоксид использовались в качестве растворителя. Тетраметилсилан (TMS) использовался в качестве внутреннего стандарта. Значения химического сдвига выражают в частях на миллион (δ). Следующие сокращения используются для мультиплетности сигналов ЯМР: с - синглет, с уш. - уширенный синглет, д - дублет, т - триплет, к - квартет, квинт. - квинтет, г - гептет, дд - дублет дублетов, дт - дублет триплетов, тт - триплет триплетов, м - мультиплет. Хроматография относится к колоночной хроматографии, осуществляемой с использованием силикагеля 100-200 меш и проводимой в условиях давления азота (флэш-хроматография).

Сtereoизомеры, как правило, обычно получают как рацематы, которые могут быть разделены на оптически активные изомеры известным по сути образом. В случае соединений формулы (I), имеющих асимметрический атом углерода, настоящее изобретение относится к D-формам, L-формам и D,L-смесям, и в случае соединения формулы (I), содержащего множество асимметрических атомов углерода, к диастереомерным формам, и изобретение распространяется на каждую из этих стереоизомерных форм и на их смеси, включая рацематы. Такие соединения общей формулы (I), имеющие асимметрический углерод и как правило полученные как рацематы, могут быть отделены один от другого обычными способами, или любой данный изомер может быть получен стереоспецифическим или асимметричным синтезом. Однако также возможно изначально использовать оптически активное соединение, соответственно, в качестве конечного соединения тогда получают оптически активное энантиомерное или диастереомерное соединение.

Сtereoизомеры соединений общей формулы (I) могут быть получены одним или более путями, представленными ниже:

- i) один или более реактивов может использоваться в их оптически активной форме;
- ii) оптически чистый катализатор или хиральные лиганды вместе с металлическим катализатором могут использоваться в процессе восстановления. Металлический катализатор может быть родием, рутением, индием и т.п. Хиральные лиганды могут предпочтительно быть хиральными фосфинами (Principles of Asymmetric synthesis, J.E. Baldwin Ed., Tetrahedron series, 14, 311-316);
- iii) смесь стереоизомеров может быть разделена стандартными способами, такими как формирование диастереомерной соли с хиральными кислотами или хиральными аминами, или хиральными аминокислотами, хиральными аминокислотами. Полученная смесь диастереомеров может затем быть разделена такими способами как фракционная кристаллизация, хроматография и т.п., с последующей дополнительной стадией выделения оптически активного продукта путем гидролиза производного;
- iv) смесь стереоизомеров может быть разделена стандартными способами, такими как разделение с использованием микроорганизмов, разделение диастереомерных солей, образованных с хиральными кислотами или хиральными основаниями.

Хиральные кислоты, которые могут использоваться, могут быть винной кислотой, миндальной кислотой, молочной кислотой, камфорсульфоновой кислотой, аминокислотами и т.п. Хиральные основания, которые могут использоваться, могут быть алкалоидами хинного дерева, бруцином или основной аминокислотой, такой как лизин, аргинин и т.п. В случае соединений общей формулы (I), содержащих геометрическую изомерию, настоящее изобретение относится ко всем этим геометрическим изомерам.

Способы хиральной ВЭЖХ.

Способ А.

Колонка: CHIRALPAK AD-H (250×4,6) мм 5 мкм; растворитель А=50,0% MeOH, В=49,9% ACN,

C=0,1% DEA; изократический поток=1,5 мл/мин. T=25°C.

Способ В.

Колонка: CHIRALPAK AD-H (250×4,6) мм 5 мкм; растворитель A=99,9% MeOH, B=0,1% DEA; изократический поток=0,8 мл/мин. T=25°C.

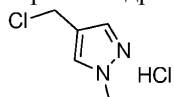
Используются следующие сокращения:

ACN:	ацетонитрил
CCl ₄ :	Тетрахлорметан
CDCl ₃ :	Дейтеризованный хлороформ
DCM:	дихлорметан
DCC:	N,N'-дициклогексилкарбодиимид
DEA:	диэтиламин
DIPEA:	N,N-диизопропилэтиламин
DMF:	N,N-диметилформамид
DMSO:	диметил сульфоксид
EDC:	Этилендихлорид
HATU:	2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат
HCl:	Соляная кислота
K ₂ CO ₃ :	Карбонат калия
MeOH:	метанол
NaNH ₄ :	Боргидрид натрия
NaOH:	Гидроксид натрия
Na ₂ SO ₄ :	Сульфат натрия
RT:	Комнатная температура (25-30 °C)
THF:	тетрагидрофуран

Примеры

Соединения согласно изобретению получали согласно следующим экспериментальным процедурам с использованием подходящих материалов и условий. Следующие примеры приведены только в качестве иллюстрации, но не ограничения объема изобретения.

Получение 1. 4-Хлорметил-1-метил-1Н-пиразол гидрохлорид (I-1)



Стадия 1. К раствору этилового эфира 1Н-пиразол-4-карбоновой кислоты (35,0 г, 0,25 моль) в THF (100 мл) добавляли суспензию гидрида натрия (17,38 г, 0,43 моль) в растворе в THF (100 мл) под N₂ при 25°C и перемешивали в течение одного часа. Метил йодид (24 мл, 0,38 родинки) добавляли при комнатной температуре и реакционную смесь нагревали до 60-65°C в течение 6 ч. Реакционную смесь вливали в воду со льдом (200 мл) и экстрагировали этилацетатом (100 мл×3). Объединенную органическую фазу промывали водой (50 мл), соевым раствором (50 мл), высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом для получения этил-1-метил-1Н-пиразол-4-карбоксилата.

Выход: 32,36 г (83%); ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ ppm: 1,30-1,33 (с, 3H), 3,91 (с, 3H), 4,25-4,30 (к, 2H), 7,83 (с, 1H), 7,88 (с, 1H); Масса (m/z): 155,0 (M+H)⁺.

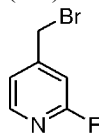
Стадия 2. Алюмогидрид лития (320 мл, 0,32 моль, 1М в THF) добавляли к охлажденному раствору этил-1-метил-1Н-пиразол-4-карбоксилата (32,34 г, 0,21 моль) в THF (300 мл) при перемешивании в атмосфере N₂. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали далее в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C, разбавляли этилацетатом и обрабатывали водой (25 мл). Смесь фильтровали через слой целита и концентрировали под вакуумом для получения сырого соединения, которое затем очищали флэш-хроматографией (этилацетат:метанол (98:2)) с получением (1-метил-1Н-пиразол-4-ил)метанола.

Выход: 14,66 г (62%); ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ ppm: 1,98 (с ушир., 1H), 3,88 (с, 3H), 4,56 (с, 2H), 7,36 (с, 1H), 7,45 (с, 1H); масса (m/z): 113,1 (M+H)⁺.

Стадия 3. К охлажденному раствору (1-метил-1Н-пиразол-4-ил)метанола (8,61 г, 0,076 моль) в DCM (100 мл) в атмосфере N₂ добавляли по каплям тионилхлорид (8,7 мл, 0,12 моль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом при 23-25°C для получения целевого соединения.

Выход: 12,77 г (99%); ^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц) δ ppm: 3,85 (с, 3H), 4,67 (с, 2H), 4,76-4,79 (т, 1H), 4,88 (с ушир., 1H), 7,47 (с, 1H), 7,78 (с, 1H).

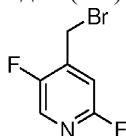
Получение 2. 4-Бромметил-2-фторпиридин (1-2)



К раствору 2-фтор-4-метилпиридина (75,0 г, 0,675 моль) в CCl_4 (200 мл) в атмосфере N_2 при 25°C добавляли N-бромсукцинимид (160 г, 0,90 моль) и пероксид бензоила (24,52 г, 0,101 моль). Реакционную массу постепенно нагревали до 85°C и перемешивали в течение 5 ч при этой температуре. Реакционную массу после охлаждения до комнатной температуры отфильтровывали под вакуумом и промывали CCl_4 (50 мл). Фильтрат концентрировали под вакуумом для получения сырого остатка, который очищали флэш-хроматографией с использованием смеси этилацетат:н-гексан (02:98) с получением целевого соединения.

Выход: 35,2 г (27%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 4,71 (с, 2H), 7,27 (с, 1H), 7,42-7,43 (д, $J=4,9$ Гц, 1H), 8,24-8,25 (д, $J=5,1$ Гц, 1H); масса (m/z): 190,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 192,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Получение 3. 4-Бромметил-2,5-дифторпиридин (1-3)



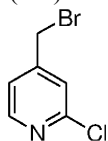
Стадия 1. К охлажденному до 0°C раствору 2,5-дифторизоникотиновой кислоты (0,5 г, 0,003 моль) в THF (5 мл) под N_2 добавляли по каплям литий-алюминийгидрид (1М в THF, 3,7 мл, 0,0037 моль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали далее в течение 1,5 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C , разбавляли этилацетатом и обрабатывали водой (0,5 мл). Смесь фильтровали через слой целита и концентрировали под вакуумом для получения (2,5-дифторпиридин-4-ил)-метанола.

Выход: 0,45 г (98%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 4,60 (с, 2H), 4,96 (с ушир., 1H), 7,05 (с, 1H), 7,78 (с, 1H); Масса (m/z): 145,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Стадия 2. К охлажденному до 0°C раствору (2,5-дифторпиридин-4-ил)метанола (0,45 г, 0,003 моль) в DCM (10 мл) под N_2 добавляли по каплям трибромид фосфора (0,44 мл, 0,0037 моль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1,5 ч. Реакционную смесь разбавляли DCM (75 мл), обрабатывали насыщенным водным бикарбонатом натрия (20 мл) и разделяли. Органический слой промывали водой (20 мл), соевым раствором (20 мл) и высушивали над Na_2SO_4 . Органическую фазу концентрировали под вакуумом для получения целевого соединения.

Выход: 0,23 г (37%); ^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц) δ ppm: 4,68 (с, 2H), 7,20 (с, 1H), 8,16 (с, 1H); Масса (m/z): 208,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 210,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Получение 4. 4-Бромметил-2-хлорпиридин (1-4)



Стадия 1. К раствору 2-хлоризоникотиновой кислоты (2,0 г, 0,012 моль) в DMF (5 мл) под N_2 при 25°C добавляли гидрид натрия (0,73 г, 0,015 моль) и перемешивали в течение 0,5 ч. Метилйодид (1,5 мл, 0,025 моль) добавляли при комнатной температуре и реакционную смесь нагревали до 50°C в течение 2 часов. Реакционную смесь растворяли в воде со льдом (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Органический слой промывали соевым раствором (50 мл) и высушивали над Na_2SO_4 . Органическую фазу концентрировали под вакуумом для получения метил 2-хлоризоникотината.

Выход: 2,1 г (100%); масса (m/z): 172,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 174,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Стадия 2. К охлажденному раствору метил 2-хлоризоникотината (1,7 г, 0,009 моль) в THF (30 мл) под N_2 частями добавляли боргидрид лития (0,43 г, 0,019 моль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали далее в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении; остаток растворяли в ледяной воде (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Органический слой промывали соевым раствором (50 мл) и высушивали над Na_2SO_4 . Органическую фазу концентрировали под вакуумом для получения сырого соединения, которое затем очищали флэш-хроматографией с использованием смеси этилацетат:н-гексан (40:60) с получением (2-хлорпиридин-4-ил)метанола.

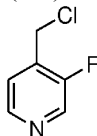
Выход: 1,0 г (71%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 2,29 (с ушир., 1H), 4,75 (с, 2H), 7,20-7,21 (д, $J=4,9$ Гц, 1H), 7,31 (с, 1H), 8,32-8,33 (д, $J=5,0$ Гц, 1H); масса (m/z): 144,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 145,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Стадия 3. (2-Хлорпиридин-4-ил)-метанол превращали в целевое соединение с использованием про-

цедуры, подобной описанной на стадии 2 получения 3.

Выход: 0,49 г (85%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 4,35 (с, 2H), 7,36 (с, 1H), 8,37-8,38 (д, J=4,9 Гц, 1H); Масса (m/z): 205,9 (M+H) $^+$, 208,0 (M+H) $^+$.

Получение 5. 4-Хлорметил-3-фторпиридин (1-5)



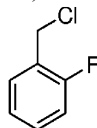
Стадия 1. 3-Фторизоникотиновую кислоту превращали в (3-фторпиридин-4-ил)метанол с использованием процедуры, подобной описанной на стадии 1 получения 3.

Выход: 0,19 г (7 0%); масса (m/z): 128,1 (M+H) $^+$.

Стадия 2. К охлажденному раствору (3-фторпиридин-4-ил)метанола (0,19 г, 0,001 моль) в DCM (5 мл) под N_2 добавляли по каплям тионилхлорид (0,21 мл, 0,003 моль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли DCM (50 мл) и обрабатывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (10 мл). Органический слой промывали водой (20 мл), соевым раствором (20 мл) и высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом для получения целевого соединения.

Выход: 0,12 г (56%); масса (m/z): 146,0 (M+H) $^+$, 148,0 (M+H) $^+$.

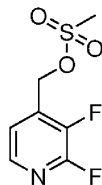
Получение 6. 1-Хлорметил-2-фторбензол (1-6)



Целевое соединение, 1-хлорметил-2-фторбензол, синтезировали из 2-фторбензойной кислоты с осуществлением процедуры, как описано в получении 5.

Выход: 0,455 г (100%); масса (m/z): 145 (M+H) $^+$, 147,0 (M+H) $^+$.

Получение 7. 2,3-Дифторпиридин-4-илметилсульфонат метансульфоновой кислоты (1-7)

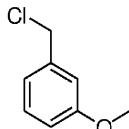


Стадия 1. (2,3-Дифторпиридин-4-ил)метанол синтезировали из 2,3-дифторизоникотиновой кислоты путем осуществления процедуры, как описано в получении 3. Выход: 0,16 г (2 9%); Масса (m/z): 146,0 (M+H) $^+$.

Стадия 2. (2,3-Дифторпиридин-4-ил)метанол превращали в целевое соединение путем реакции с метансульфонил хлоридом и продукт использовали как таковой без какой-либо очистки.

Выход: 0,37 г (68%).

Получение 8. 1-Хлорметил-3-ен (1-8)



Стадия 1. К раствору 3-гидроксибензальдегида (3,0 г, 0,025 моль) в DMF (15 мл) при комнатной температуре добавляли K_2CO_3 (10,18 г, 0,073 моль) и метилиодид (6,93 г, 0,049 моль) и перемешивали в течение 12 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь вливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл $\times$ 3). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом для получения 3-метоксибензальдегида.

Выход: 3,11 г (93%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 3,87 (с, 2H), 7,17-7,20 (м, 1H), 7,40-7,41 (м, 1H), 7,43-7,46 (м, 2H), 9,98 (с, 1H).

Стадия 2. К раствору 3-метоксибензальдегида (3,11 г, 0,022 моль) в THF (10 мл) и метаноле (20 мл) добавляли частями NaBH_4 (1,43 г, 0,042 моль) при 0-10°C в атмосфере азота. После добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом и вливали в воду (50 мл). Водный слой экстрагировали этилацетатом (50 мл $\times$ 3). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом для получения (3-метоксифенил)метанола.

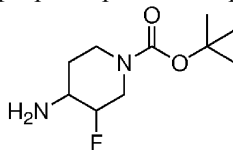
Выход: 2,95 г (93%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 3,85 (с, 3H), 4,69-4,71 (м, 2H), 6,85-6,88 (м, 1H), 6,96-6,97 (м, 2H), 7,28-7,32 (м, 1H).

Стадия 3. Целевое соединение синтезировали из (3-метоксифенил)метанола процедурой, описанной

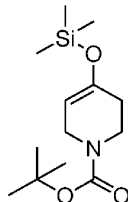
в получении 5.

Выход: 3,03 г (78%); ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 3,82 (с, 3H), 4,57 (с, 2H), 6,85-6,88 (м, 1H), 6,94-6,98 (м, 2H), 7,26-7,30 (м, 1H).

Получение 9. трет-Бутил 4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат

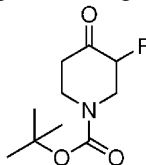


Стадия 1. трет-Бутил-4-триметилсиланилокси-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилат



Хлортриметилсилан (16,3 г, 0,15 моль) добавляли по каплям к смеси трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (25,0 г, 0,12 моль), триэтиламина (42,6 мл, 0,31 моль) в 35 мл DMF при 25°C за 20 мин под N_2 . Реакционную массу нагревали до 90-92°C и поддерживали в течение 20 ч. Реакционной массе давали охладиться до 25°C. N-гексан (120 мл) добавляли к реакционной массе и нейтрализовали насыщенным раствором бикарбоната натрия (60 мл). Органический слой отделяли, промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой и соевым раствором. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом при 45°C для получения целевого соединения. Выход: 33,3 г (66%).

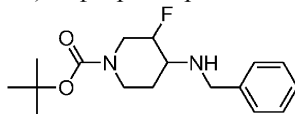
Стадия 2. трет-Бутил-3-фтор-4-оксопиперидин-1-карбоксилат



трет-Бутил-4-триметилсиланилокси-3,6-дигидро-2H-пиридин-1-карбоксилат (33,3,12 моль) добавляли по каплям к Selectfluor® (30,6 г, 0,086 моль) в 250 мл ацетонитрила при комнатной температуре за 15 минут. Реакция была экзотермической и температуру реакционной массы повышали до 60°C и получали прозрачный раствор. После добавления реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 10 ч под N_2 . Реакционную массу разбавляли 200 мл этилацетата и промывали соевым раствором (100 мл×2). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали на роторном испарителе при 45°C под вакуумом для получения остатка, который очищали флэш-хроматографией с использованием смеси этилацетат:гексан (40:60) с получением целевого соединения.

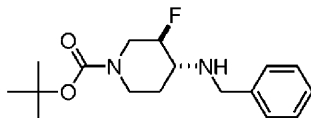
Выход: 15,2 г (55%).

Стадия 3. трет-Бутил-4-(бензиламино)-3-фторпиперидин-1-карбоксилат



К прозрачному раствору трет-бутил-3-фтор-4-оксопиперидин-1-карбоксилата (3,0 г, 0,0138 моль, полученного на стадии 2) в EDC (50 мл), добавляли бензил амин (1,77 г, 0,016 моль) и перемешивали в течение 2 ч. Натрий триацетоксиборгидрид (5,86 г, 0,276 моль) добавляли при 10°C. После добавления реакционную массу перемешивали в течение 12 ч под N_2 при комнатной температуре. Реакционную массу вливали в воду, подщелачивали щелочным раствором и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом для получения сырого остатка, который очищали флэш-хроматографией с использованием смеси этилацетат:гексан (20:80) с получением трет-бутил-4-(бензиламино)-3-фторпиперидин-1-карбоксилата в форме отдельных цис- и транс-диастереомеров.

Транс-диастереомер (3a)

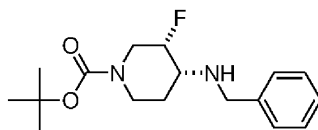


Выход: 0,370 г (8,8%).

^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ ppm: 1,45 (с, 9H), 1,60-1,70 (м, 2H), 1,96-1,99 (м, 1H), 2,79-2,91 (м, 3H), 3,78-3,81 (м, 1H), 3,88-3,91 (м, 2H), 4,22-4,27 (м, 1H), 4,36-4,39 (м, 1H), 7,24-7,35 (м, 5H); масса (m/z):

309,2 (M+H)⁺.

Цис-диастереомер (3b):



Выход: 2,02 г (47%);

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,38 (с, 9H), 1,44-1,68 (м, 2H), 2,05 (м, 1H), 2,57-2,66 (м, 2H), 2,93-3,02 (м, 1H), 3,76-3,77 (м, 2H), 3,90 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 4,71-4,83 (м, 1H), 7,19-7,35 (м, 5H); Масса (m/z): 309,2 (M+H)⁺.

Транс-диастереомер (3а), полученный на стадии 3, подвергали хиральному разделению с помощью "Способа А" хиральной ВЭЖХ с получением двух энантиомеров. Транс-энантиомер-I элюировал со временем удерживания 6,86 минут и Транс-энантиомер-II элюировал со временем удерживания 11,96 мин.

Так же цис-диастереомер (3b), полученный на стадии 3, подвергали хиральному разделению с помощью "Способа В" хиральной ВЭЖХ с получением двух энантиомеров. Цис-энантиомер-I элюировал со временем удерживания 5,76 мин и цис-энантиомер-II элюировал со временем удерживания 6,98 мин.

Стадия 4. цис-трет-Бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат (цис-изомер-I) (I-9a)

К раствору цис-энантиомера-I (как получено на стадии 3, 2,0 г, 0,06 моль, полученный на предыдущей стадии) в метаноле (50 мл), 10%-ный Pd/C (1,0 г, 0,5 об.) добавляли в одной части и перемешивали в течение 2 ч при барботировании газообразного H₂. Реакционную смесь фильтровали через целит и фильтрат концентрировали под вакуумом для получения цис-трет-бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилата (цис-изомер-I).

Выход: 1,2 г (85%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,38 (с, 9H), 1,50-1,54 (м, 2H), 1,69-1,70 (м, 2H), 2,76-2,80 (м, 2H), 3,00 (м, 1H), 3,85 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 4,45-4,63 (м, 1H); масса (m/z): 219,1 (M+H)⁺.

Стадия 5. цис-трет-Бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат (цис-изомер-II) (I-9b)

цис-Энантиомер-II (полученный на стадии 3) дебензилировали согласно процедуре, описанной на стадии 4, для получения цис-трет-бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилата (цис-изомер II).

Выход: 1,1 г (83,5%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,38 (с, 9H), 1,42-1,54 (м, 2H), 1,82 (м, 2H), 2,71-2,81 (м, 2H), 2,99 (м, 1H), 3,85 (м, 1H), 4,08 (м, 1H), 4,46-4,58 (м, 1H); масса (m/z): 219,1 (M+H)⁺.

Стадия 6. транс-трет-Бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат (транс-изомер I) (I-9c).

транс-Энантиомер-I (полученный на стадии 3) дебензилировали согласно процедуре, описанной на стадии 4, для получения транс-трет-бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилата (транс-изомер-I).

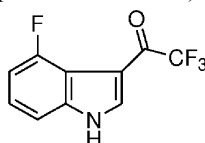
Выход: 0,33 г (96%); ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ ppm: 1,45 (с, 9H), 1,55-1,57 (м, 2H), 1,86-1,89 (м, 2H), 2,70-2,78 (м, 2H), 2,89-2,91 (м, 1H), 4,01-4,05 (м, 1H), 4,13-4,14 (м, 1H), 4,20-4,28 (м, 1H); масса (m/z): 219,1 (M+H)⁺.

Стадия 7. транс-трет-Бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат (транс-изомер II) (I-9d).

транс-Энантиомер-II (полученный на стадии 3) дебензилировали согласно процедуре, описанной на стадии 4, для получения транс-трет-бутил-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилата (транс-изомер-II).

Выход: 0,31 г (95%); ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ ppm: 1,45 (с, 9H), 1,52-1,57 (м, 2H), 1,86-1,89 (м, 2H), 2,75-2,80 (м, 2H), 2,86-2,94 (м, 1H), 3,98-4,04 (м, 1H), 4,11-4,16 (м, 1H), 4,20-4,28 (м, 1H); масса (m/z): 219,1 (M+H)⁺.

Получение 10. 2,2,2-Трифтор-1-(4-фтор-1H-индол-3-ил)-этанон (I-10)

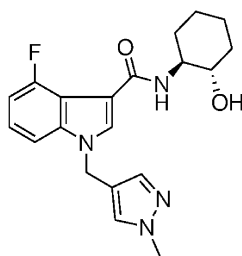


К раствору 4-фториндола (28,75 г, 0,213 моль (полученного согласно Org. Synth. 1985, 63, 214) в DMF (200 мл), ангидрид трифторуксусной кислоты (73,50 г, 0,349 моль) медленно добавляли по каплям при 0°C в атмосфере азота. После завершения добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0-10°C и медленно вливали в ледяную воду (500 мл). Реакционную массу перемешивали в течение 30 мин. Таким образом, полученное твердое вещество отфильтровывали, промывали водой (500 мл), затем n-гексаном (500 мл). Полученные твердые вещества высушивали под вакуумом с получением целевого соединения.

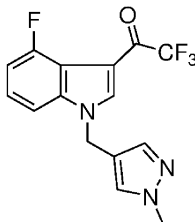
Выход: 37,25 г (75%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 7,03-7,07 (м, 1H), 7,30-7,35 (м, 1H), 7,39-7,41 (м, 1H), 8,51 (с, 1H), 12,91 (с, 1H); Масса (m/z): 230 (M-H)⁺.

Получение примеров соединения формулы (I).

Пример 1. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид



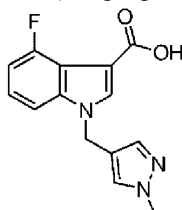
Стадия 1. 1-[1-(1-Метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-ил]-2,2,2-трифторэтанон



К охлажденному раствору 2,2,2-трифтор-1-(4-фтор-1Н-индол-3-ил)этанона (1-10, 13,30 г, 0,057 моль) в DMF (100 мл) под N_2 добавляли K_2CO_3 (47,06 г, 0,34 моль), 4-хлорметил-1-метил-1Н-пиразол гидрохлорид (13,07 г, 0,078 моль) и содержимое перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь вливали в ледяную воду (1000 мл) и экстрагировали этилацетатом (250 мл×3). Объединенные органические слои промывали водой (200 мл×3), соевым раствором (100 мл) и высушивали над Na_2SO_4 . Органическую фазу концентрировали под вакуумом для получения сырого соединения, которое затем очищали флэш-хроматографией (этилацетат:н-гексан (80:20)) с получением 1-[1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-ил]-2,2,2-трифторэтанона.

Выход: 17,23 г (92%); 1H -ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц) δ ppm: 3,88 (с, 3H), 5,26 (с, 2H), 7,01-7,05 (м, 1H), 7,21-7,26 (м, 1H), 7,30-7,34 (м, 2H), 7,48 (с, 1H), 7,91 (с, 1H); масса (m/z): 326,2 (M+H) $^+$.

Стадия 2. 1-(1-Метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоновая кислота



Смесь 1-[1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-ил]-2,2,2-трифторэтанона (21,39 г, 0,066 моль) и 4н. водного раствора NaOH (27,07 г, 0,67 моль) нагревали до 98-100°C в течение 5 ч. Реакционную массу охлаждали до 5-10°C и разбавляли 100 мл ледяной воды. Водный слой подкисляли уксусной кислотой до pH ~ 5 при 5-10°C. Твердые вещества, полученные таким образом, отфильтровывали. Эти твердые вещества экстрагировали из смеси этилацетат:метанол (80:20), высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением 1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоновой кислоты.

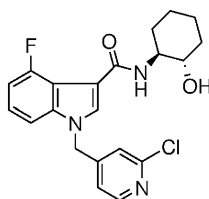
Выход: 16,71 г (93%); 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц) δ ppm: 3,75 (с, 1H), 5,29 (с, 2H), 6,87-6,92 (м, 1H), 7,17-7,22 (м, 1H), 7,40-7,50 (м, 2H), 7,73 (с, 1H), 8,11 (с, 1H); масса (m/z): 274,3 (M+H) $^+$.

Стадия 3. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоксамид.

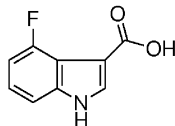
Раствор 1-(1-метил-1Н-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1Н-индол-3-карбоновой кислоты (16,70 г, 0,061 моль) в DMF (120 мл) и HATU (29,21 г, 0,077 моль) перемешивали в течение 15 мин с последующим добавлением (1S,2S) 2-аминоциклогексанол гидрохлорида (11,28 г, 0,074 моль) и DIPEA (49 мл, 0,28 моль) за 15 мин при комнатной температуре. Во время добавления DIPEA реакционная масса становится экзотермической. После завершения добавления реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную массу медленно вливали в воду (800 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученное твердое вещество отфильтровывали, промывали водой (1000 мл). Эти твердые вещества экстрагировали из смеси этилацетат:метанол (80:20), высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением твердых веществ. Эти твердые вещества растворяли в этилацетате (700 мл), перемешивали при 60°C и фильтровали для удаления любых нерастворенных частиц. Фильтрат концентрировали под вакуумом для получения целевого продукта.

Выход: 17,64 г (78%); 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$, 400 МГц) δ ppm: 1,17-1,24 (м, 4H), 1,59-1,65 (м, 2H), 1,86-1,88 (м, 1H), 1,96-1,98 (м, 1H), 3,59-3,61 (м, 1H), 3,76 (с, 3H), 4,70-4,71 (д, J=4,7 Гц, 1H), 5,28 (с, 2H), 6,90-6,95 (м, 1H), 7,18-7,22 (м, 1H), 7,40-7,45 (м, 2H), 7,50-7,52 (д, J=8,27 Гц, 1H), 7,71 (с, 1H), 8,00 (с, 1H); масса (m/z): 371,2 (M+H) $^+$ +34,8°.

Пример 2. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(2-хлорпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид



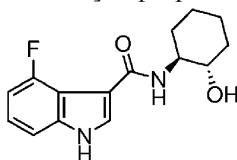
Стадия 1. 4-Фтор-1H-индол-3-карбоновая кислота



К 2,2,2-трифтор-1-(4-фтор-1H-индол-3-ил)-этаноне (1-10, 18,49 г, 0,080 моль), 4н. водный раствор NaOH (200 мл, 0,80 моль) добавляли при комнатной температуре и нагревали до 100°C в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли ледяной водой (200 мл). Водный слой промывали этилацетатом (100 мл×2) и подокисляли разбавленной HCl до pH ~ 4. Полученное твердое вещество отфильтровывали, промывали водой и n-гексаном, каждого по 100 мл, отдельно. Твердые вещества высушивали под вакуумом.

Выход: 5,43 г (38%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 6,84-6,89 (м, 1H), 7,12-7,17 (м, 1H), 7,26-7,28 (м, 1H), 8,02 (с, 1H), 11,87 (с, 1H), 12,05 (м, 1H); Масса (m/z): 180,2 (M+H)⁺.

Стадия 2. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид



К раствору 4-фтор-1H-индол-3-карбоновой кислоты, полученной на предыдущей стадии (0,39 г, 0,002 моль), в DMF (15 мл) под N₂ при 25°C добавляли HATU (0,99 г, 0,0026 моль), (1S,2S)-2-аминоциклогексанол гидрохлорид (0,39 г, 0,0026 моль), DIPEA (1,5 мл, 0,0026 моль) с промежутком 5 мин после каждого добавления. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь вливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (25 мл×3). Органический слой промывали соевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом для получения сырого остатка, который затем очищали флэш-хроматографией (метанол:хлороформ (03:97)) с получением целевого соединения.

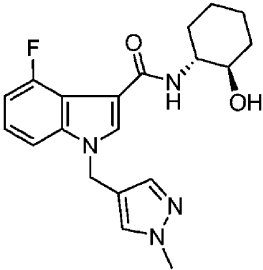
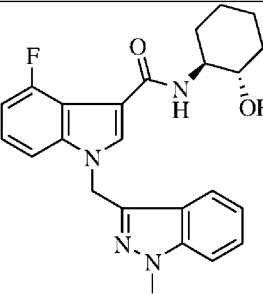
Выход: 0,43 г (73%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,17-1,25 (м, 4H), 1,60-1,66 (м, 2H), 1,87-1,97 (м, 2H), 3,37-3,39 (м, 1H), 3,59-3,64 (м, 1H), 4,73-4,74 (д, J=4,9 Гц, 1H), 6,87-6,92 (м, 1H), 7,12-7,17 (м, 1H), 7,28-7,30 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,41-7,45 (т, 1H), 7,91-7,92 (д, J=2,4 Гц, 1H), 11,88 (с, 1H); масса (m/z): 277,1 (M+H)⁺.

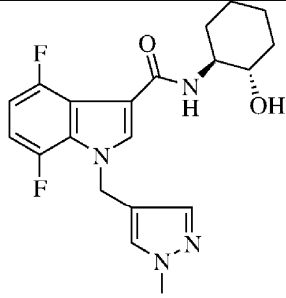
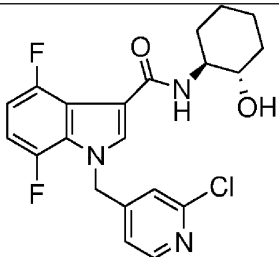
Стадия 3. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(2-хлорпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид.

К раствору N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид (0,24 г, 0,0008 моль) в DMF (5 мл) под N₂ при 25°C добавляли карбонат калия (0,37 г, 0,0026 моль), йодид калия (0,014 г, 0,00008 моль), 4-бромметил-2-хлорпиридин (1-4, 0,25 г, 0,0012). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь вливали в воду со льдом (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Органический слой промывали соевым раствором (50 мл) и высушивали над Na₂SO₄. Органическую фазу концентрировали под вакуумом для получения сырого остатка, который затем очищали флэш-хроматографией с использованием смеси метанол:хлороформ (02:98) с получением целевого соединения. Выход: 1,0 г (76%); ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ ppm: 1,27-1,44 (м, 4H), 1,79 (м, 2H), 2,11 (м, 2H), 3,49 (м, 1H), 3,87 (м, 1H), 4,29 (с, 1H), 5,34 (с, 2H), 6,88 (с, 1H), 6,99-7,02 (м, 3H), 7,21 (м, 2H), 8,02 (с, 1H), 8,33-8,34 (д, J=3,8 Гц, 1H); масса (m/z): 402,2 (M+H)⁺.

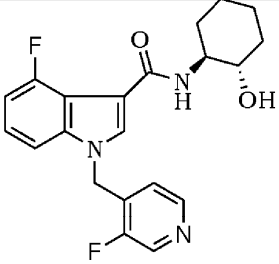
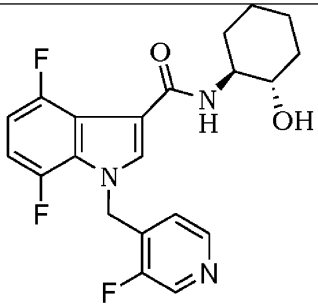
Примеры 3-19.

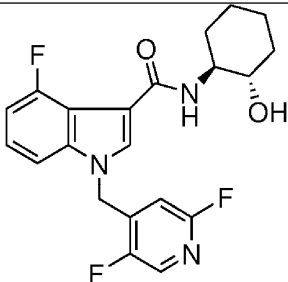
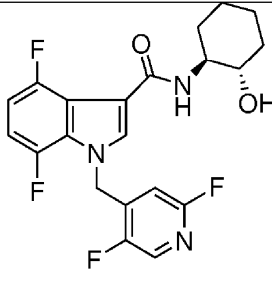
Соединения примеров 3-19 были получены путем осуществления экспериментальных процедур, как описано в примерах 1 и 2, с некоторыми некритическими изменениями

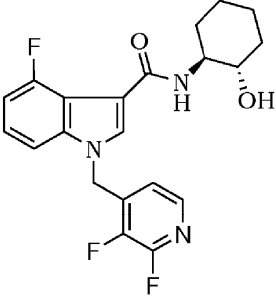
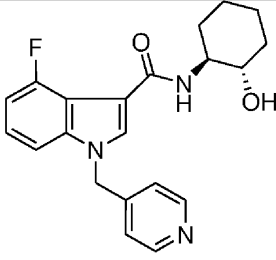
Пример No.	Химическое название и структура	Данные охарактеризовывания
3	 N-[(1R,2R)-2- гидроксициклогексил]-1-(1-метил-	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ ; , 400 MUw) δ ppm: 1,16-1,29 (м, 4H)? 1,59-1,65 (м, 2H), 1,86-1,98 (м, 2H), 3,29-3,34 (м, 1H), 3,56-3,60 (м, 1H), 3,75 (с, 3H), 4,70-4,71 (д, 1H), 5,28 (с, 2H), 6,90-6,95 (м, 1H),
	1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H- индол-3-карбоксамид	7,17-7,22 (м, 1H), 7,40-7,44 (т, 1H), 7,45 (с, 1H), 7,50- 7,52 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,71 (с, 1H), 8,00 (с, 1H); Масса (m/z): 371,3 (M+H)⁺.
4	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(1-метил-	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,16- 1,23 (м, 4H), 1,59- 1,65 (м, 2H), 1,86- 1,98 (м, 2H), 3,29- 3,34 (м, 1H), 3,56- 3,60 (м, 1H), 4,01 (с, 3H), 4,70-4,71 (д, 1H); 5,81 (с, 2H), 6,89-6,95 (м, 1H), 7,09-7,13 (м, 1H), 7,16-7,21 (м, 1H), 7,35-7,39 (т, 1H), 7,43-7,47 (т, 1H), 7,53-7,55 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,59- 7,61 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,65-7,67 (д, J=8,1 Гц, 1H), 8,13 (с, 1H); Масса (m/z): 421,3 (M+H)
	1H-имидазол-3-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	

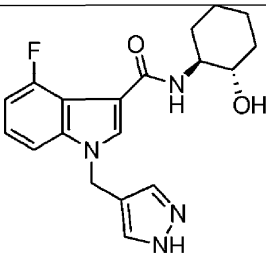
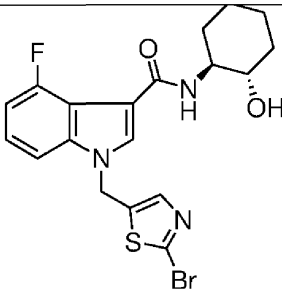
5	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(1-метил- 1H-пиразол-4-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,19- 1,24 (м, 4H), 1,59- 1,62 (м, 2H), 1,85- 1,88 (м, 1H), 1,95- 1,97 (м, 1H), 3,27- 3,29 (м, 1H), 3,57- 3,59 (м, 1H), 3,76 (с, 3H), 4,65-4,66 (д, J=4,75 Гц, 1H), 5,35 (с, 2H), 6,86- 6,88 (м, 1H), 7,01- 7,03 (м, 1H), 7,40 (с, 1H), 7,48-7,53 (м, 1H), 7,66 (с, 1H), 8,00 (с, 1H); Масса (m/z): 389,3 (M+H) ⁺ .
6	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2- хлорпиридин-4-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,23 (м, 4H), 1,61-1,62 (м, 2H), 1,87-1,97 (м, 2H), 3,40 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 4,66-4,67 (д, 1H), 5,63 (с, 2H), 6,88- 6,93 (м, 1H), 6,97- 7,04 (м, 2H), 7,22 (с, 1H), 7,66-7,69 (т, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,35-8,36 (д, J=5,0 Гц, 1H); Масса (m/z): 420,3 (M+H) ⁺ .

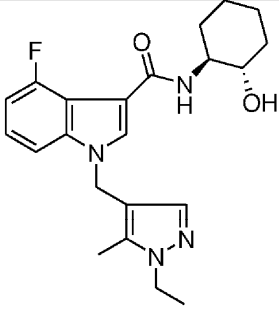
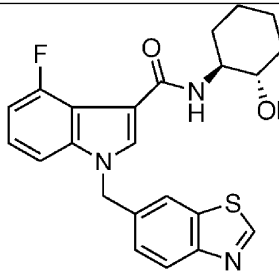
7	N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2- фторпиридин-4-ил-метил)-4-фтор- 1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,17- 1,29 (м, 4H), 1,59- 1,65 (т, 2H), 1,86- 1,98 (дд, 2H), 3,36 (м, 1H), 3,60-3,61 (м, 1H), 4,69-4,70 (д, 1H), 5,61 (с, 2H), 6,92-6,97 (т, 2H), 7,05-7,06 (д, J=4,7 Гц, 1H), 7,15- 7,20 (м, 1H), 7,31- 7,33 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,51-7,55 (т, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,16-8,17 (д, J=5,1 Гц, 1H); Масса (m/z): 386,3 (M+H) ⁺ .
8	N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2- фторпиридин-4-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 3,22- 1,29 (м, 4H), 1,60- 1,66 (м, 2H), 1,88- 1,98 (м, 2H), 3,33- 3,38 (м, 1H), 3,61- 3,63 (м, 1H), 4,66- 4,68 (д, 1H), 5,67 (с, 2H), 6,86 - 6,93 (м, 2H), 6,96-7,02 (м, 2H), 7,65-7,68 (т, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,18- 8,20 (д, J=5,11 Гц, 1H); Масса (m/z): 404,2 (M+H) ⁺ .

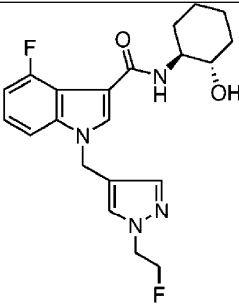
9	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(3- фторпиридин-4-илметил)-4- фтор- 1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,18-1,25 (м, 4H), 1,60-1,66 (м, 2H), 1,87-1,89 (м, 1H), 1,97-1,99 (м, 1H), 3,36-3,37 (м, 1H), 3,60-3,62 (м, 1H), 4,69-4,71 (д, J=4,95 Гц, 1H), 5,67 (с, 2H), 6,86-6,89 (м, 1H), 6,94-6,99 (м, 1H), 7,17-7,23 (м, 1H), 7,35-7,37 (д, J=8,2 Гц, 1H). 7,51-7,54 (м, 1H), 8,06 (с, 1H), 8,33-8,34 (д, J=4,7 Гц, 1H), 8,59 (с, 1H); Масса (m/z): 386,2 (M+H) ⁺ .
10	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(3- фторпиридин-4-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,24-1,29 (м, 4H), 1,60-1,66 (м, 2H), 1,87-1,90 (м, 1H), 1,95-1,97 (м, 1H), 3,34-3,35 (м, 1H), 3,58-3,62 (м, 1H), 4,66-4,68 (д, J=4,95 Гц, 1H), 5,72-5,76 (с, 2H), 6,76-6,79 (м, 1H), 6,88-6,93 (м, 1H), 6,97-7,03 (м, 1H), 7,67-7,64 (м, 1H), 8,08 (с, 1H), 8,33-8,35 (д, J=4,8 Гц, 1H), 8,60 (с, 1H); Масса (m/z):

		404,2 (M+H) ⁺ .
11	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2,5- дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор- 1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (CDCl ₃ 400 МГц) δ ppm: 1,33- 1,48 (м, 4H), 1,79 (м, 2H), 2,10-2,11 (м, 2H), 3,47-3,51 (м, 1H), 3,88 (м, 1H), 4,25 (с ушир., 1H), 5,42 (с, 2H), 6,27-6,28 (м, 1H), 6,98-7,09 (м, 2H), 7,21-7,23 (м, 2H), 8,03 (с, 1H), 8,11 (с, 1H); Масса (m/z): 404,2 (M+H) ⁺ .
12	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2,5- дифторпиридин-4-илметил)-4,7- дифтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,23 (м, 4H), 1,63 (м, 2H), 1,87-1,96 (м, 2H), 3,51 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 4,66 (м, 1H), 5,73 (с, 2H), 6,61 (с, 1H), 6,91-7,02 (м, 2H), 7,66 (м, 1H), 8,04 (с, 1H), 8,31 (с, 1H); Масса (m/z): 422,3 (M+H) ⁺ .

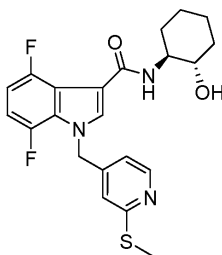
13	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(2,3- дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор- 1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,23- 1,24 (м, 4H), 1,60- 1,65 (м, 2H), 1,86- 1,89 (м, 1H), 1,96- 1,98 (м, 1H), 3,43- 3,46 (м, 1H), 3,57- 3,60 (м, 1H), 4,69- 4,71 (д, J=4,5 Гц, 1H), 5,74 (с, 2H), 6,76-6,77 (м, 1H), 6,95-7,00 (м, 1H), 7,18-7,23 (м, 1H), 7,36-7,38 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,52-7,56 (м, 1H), 7,93-7,94 (д, J=4,4 Гц, 1H), 8,06 (с, 1H); Масса (m/z): 404,2 (M+H) ⁺ .
14	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(1- пиридин-4-илметил)-4-фтор-1H- индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,23- 1,25 (м, 4H), 1,60- 1,66 (м, 2H), 1,87- 2,00 (м, 2H), 3,40 (м, 1H), 3,60-3,61 (м, 1H), 4,71-4,72 (д, 1H), 5,57 (с, 2H), 6,90-6,95 (м, 1H), 7,13-7,16 (м, 1H), 7,18-7,20 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,27- 7,30 (м, 1H), 7,33- 7,35 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,46-7,49 (т, 1H), 7,73-7,77 (т,

		1H), 8,09 (с, 1H), 8,50-8,52 (д, J=4,1 Гц, 1H); Масса (m/z): 368,3 (M+H) ⁺ .
15	 N-[(1S,2S) -2-гидроксициклогексил]-1-(1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,16-1,24 (м, 4H), 1,59-1,65 (м, 2H), 1,85-1,97 (м, 2H), 3,29-3,34 (м, 1H), 3,58 (м, 1H), 4,70-4,71 (д, 1H), 5,31 (с, 2H), 6,90-6,95 (м, 1H), 7,17-7,20 (м, 1H), 7,40-7,44 (т, 1H), 7,51-7,54 (м, 2H), 7,81 (с, 1H), 7,99 (с, 1H), 12,79 (с ушир., 1H); Масса (m/z): 357,3 (M+H) ⁺ .
16	 N-[(1S,2S) -2-гидроксициклогексил]-1-(2-бромтиазол-5-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (CDCl ₃ , 400 МГц) δ ppm: 1,25-1,36 (м, 4H), 1,75-1,78 (м, 2H), 2,04-2,13 (м, 2H), 3,44-3,49 (м, 1H), 3,84-3,86 (м, 1H), 4,30-4,31 (с ушир., 1H), 5,43 (с, 2H), 6,96-7,01 (м, 1H), 7,15-7,23 (м, 3H), 7,49-7,52 (м, 1H), 7,98 (с, 1H); Масса (m/z): 452,2, 454,2 (M+H) ⁺ .

17	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1-(1-этил- 5-метил-1H-пиразол-4-илметил)-4- фтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,17- 1,24 (м, 4H), 1,48- 1,51 (т, 3H), 1,59- 1,65 (м, 2H), 1,86- 1,88 (м, 1H), 1,96- 1,98 (м, 1H), 2,78 (с, 3H), 3,59-3,61 (м, 1H), 3,69-3,73 (м, 2H), 4,70-4,71 (д, J=4,7 Гц, 1H), 5,28 (с, 2H), 6,90- 6,95 (м, 1H), 7,18- 7,22 (м, 1H), 7,40- 7,45 (м, 2H), 7,50- 7,52 (д, J=8,27 Гц, 1H), 7,71 (с, 1H), 8,00 (с, 1H); Масса (m/z): 399,3 (M+H) ⁺ .
18	 N-[(1S,2S)-2- гидроксициклогексил]-1- (бензотиазол-6-илметил)-4-фтор- 1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,16- 1,33 (м, 4H), 1,60- 1,66 (м, 2H), 1,87- 1,99 (м, 2H), 3,29- 3,34 (м, 1H), 3,58- 3,62 (м, 1H), 4,70- 4,71 (д, 1H), 5,65 (с, 2H), 6,90-6,96 (м, 1H), 7,14-7,19 (м, 1H), 7,42-7,51 (м, 3H), 8,04-8,09 (м, 2H), 8,16 (с, 1H), 9,37 (с, 1H); Масса (m/z): 424,20 (M+H) ⁺ .

19	 N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторэтил)-1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид	¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆ , 400 МГц) δ ppm: 1,25-1,39 (м, 4H), 1,75-1,77 (м, 2H), 2,06-2,13 (м, 2H), 3,43-3,48 (м, 2H), 3,83-3,85 (м, 1H), 4,31-4,33 (т, 1H), 4,38-4,40 (т, 1H), 4,65-4,68 (т, 1H), 4,77-4,79 (т, 1H), 5,20 (с, 2H), 6,92-6,98 (м, 1H), 7,17-7,24 (м, 3H), 7,39 (с, 1H), 7,48 (с, 1H), 7,96 (с, 1H); Масса (m/z): 403,2 (M+H) ⁺ .
----	---	--

Пример 20. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанилпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-индол-3-карбоксамид

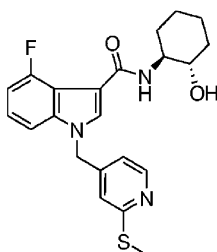


К суспензии N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-индол-3-карбоксамида (пример 8, 0,050 г, 0,00012 моль) в THF (10 мл) добавляли натрий тиометилат (0,020 г, 0,00029 моль) и нагревали до 60°C в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и вливали в воду. Водный слой экстрагировали этилацетатом (25 мл×3).

Органический слой высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом для получения сырого остатка, который затем очищали препаративной TLC, используя этилацетат, с получением целевого соединения.

Выход: 9,0 мг (16,5%); ¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,24 (м, 5H), 1,60-1,66 (м, 2H), 1,87-1,90 (м, 1H), 1,94-1,97 (м, 1H), 2,46 (с, 3H), 3,34-3,35 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 5,55 (с, 2H), 6,71-6,73 (д, J=4 Гц, 1H), 6,86-6,92 (м, 1H), 6,97-7,02 (м, 2H), 7,65-7,68 (м, 1H), 8,09 (с, 1H), 8,35-8,36 (д, J=5,1 Гц, 1H); масса (m/z): 432,2 (M+H)⁺.

Пример 21. N-[(1S,2S)-2-Гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанилпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид



Целевое соединение получали экспериментальной процедурой, как описано в примере 20 с использованием примера 7 с некоторыми некритическими изменениями.

¹H-ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ ppm: 1,18-1,23 (м, 4H), 1,33-1,35 (м, 1H), 1,60-1,66 (м, 2H), 1,87-1,89 (м, 1H), 1,97-1,99 (м, 1H), 3,33-3,38 (м, 3H), 3,40-3,48 (м, 1H), 4,70-4,71 (д, 1H), 5,50 (с, 2H), 6,79-6,81 (м, 1H), 6,92-6,97 (м, 1H), 7,11 (с, 1H), 7,15-7,21 (м, 1H), 7,31-7,33 (м, 1H), 7,51-7,55 (м, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,34-8,35 (м, 1H); масса (m/z): 413,51 (M+H)⁺.

Биологические данные.

Пример 72. Определение значений EC₅₀ аллостерического потенциала в отношении Мускаринового рецептора M1.

Стабильную клеточную линию CHO, экспрессирующую рекомбинантный мускариновый рецептор M1 человека и репортерную систему pCRE-Luc, использовали для клеточного теста. Этот тест предлагает нерадиоактивный подход для определения связывания соединения с GPCRs. В этом специфическом тесте измеряется уровень внутриклеточного циклического АМФ, который модулируется активацией или ингибированием рецептора. Рекомбинантные клетки содержат репортерный ген люциферазы под контролем элемента ответа цАМФ.

Вышеупомянутые клетки выращивали в 96-луночной планшете с белыми стенками и прозрачным дном в среде Hams F12, содержащей 10%-ную эмбриональную бычью сыворотку (FBS). До добавления соединений или стандартного агониста клетки выдерживали в бессывороточной среде в течение ночи. Увеличивающиеся концентрации тестируемых соединений добавляли к клеткам вместе с EC₂₀ ацетилхолина в среде OptiMEM. Инкубацию продолжали при 37°C в инкубаторе CO₂ в течение 4 ч. Среду удаляли и клетки промывали буферизованным солевым фосфатным раствором. Клетки лизировали и активность люциферазы измеряли в Люминометре. Единицы люминесценции выстраивали против концентраций соединений с помощью программного обеспечения Graphpad. Значения EC₅₀ соединений были определены как концентрация, требуемая для стимуляции активности люциферазы на 50% в присутствии EC₂₀ ацетилхолина и результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Прим.	hM1 РАМ EC ₅₀ (нМ)	Прим.	hM1 РАМ EC ₅₀ (нМ)
1	1264	25	1441
2	681,1	26	1105
3	1637	27	1689
4	1492	28	1568
3	370,5	29	2920
6	122,5	30	1081
7	1360	31	1608
8	192	32	1586
9	1417	33	1374
10	940	34	1387
11	1534	35	1482
12	432,5	36	1349
13	1378	37	1985
18	160,2	38	1448
19	744	39	1485
22	1495	44	1306
23	1074	45	1163
24	1390		

Пример 73. Тест связывания белка.

Несвязанные фракции новых химических соединений в плазме, гомогенате мозга и микросомах печени определяли с помощью высокопроизводительного диализа (НТ диализ). Кратко, мембраны диализа пропитывали деионизированной водой в течение 20 мин и затем деионизированной водой с 30%-ным этанолом в течение 15 мин и наконец фосфатным буфером перед использованием. Мембраны промывали фосфатным буфером перед сборкой. Мембраны выкладывали слоями между тefлоновыми пластинками блока диализа. Сток-растворы тестируемых соединений получали в концентрации 10 мМ в DMSO, разбавляли до 1 мМ в ацетонитриле и далее разбавляли до 100 мкМ в смеси воды и ацетонитрила (1:1 об./об.). Человеческую плазму (пул 3) получали из человеческой крови (3 донора) путем центрифугирования при 4000 об/мин в течение 10 мин при 4°C. Кровь крысы и собаки получали в день исследования и центрифугировали для получения плазмы. Мозги крысы изолировали, очищали и гомогенизировали с 2 объемами буфера (3× разбавление). Микросомы печени получали в 0,5 мг/мл в фосфатном буфере (100 мМ, рН 7,4). В камеры для диализа загружали 150 мкл 100 мМ фосфатного буфера (рН 7,4) в 3 экземплярах. Матричные камеры загружали 150 мкл гомогената плазмы или мозга или микросомальной суспензии, дополненных тестируемыми соединениями в конечной концентрации 1 мкМ. 50 мкл образца удаляли из обеих камер в 0 ч. Планшет запечатывали и инкубировали при 37°C в течение 6 ч при 100 об/мин. Через 6 ч 50 мкл образца удаляли из обеих камер. Равные объемы буфера или человеческой плазмы/микросомальной суспензии добавляли к плазме/микросомальным и буферным образцам соответственно, для создания идентичных матричных образцов для анализа. Образцы осаждали, используя 150 мкл ацетонитрила, содержащего флуоксетин в качестве внутреннего стандарта. Все образцы центрифугиро-

вали при 10000 об/мин в течение 10 мин при 4°C. Супернатанты анализировали LC-MS/MS и результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Пример	Виды	Fu (среднее $\pm$ SEM, n=3)		
		Плазма	Мозг	Микросомы
1	Крыса	0.267 $\pm$ 0.03	0.166 $\pm$ 0.01	0.836 $\pm$ 0.04
	Собака	0.217 $\pm$ 0.21	NA	0.982 $\pm$ 0.01
	Человек	0.197 $\pm$ 0.01	NA	1.046 $\pm$ 0.07
2	Крыса	0.068 $\pm$ 0.002	0.015 $\pm$ 0.001	0.679 $\pm$ 0.081
	Собака	0.087 $\pm$ 0.008	NA	0.576 $\pm$ 0.079
	Человек	0.040 $\pm$ 0.002	NA	0.459 $\pm$ 0.046
5	Крыса	0.210 $\pm$ 0.01	0.128 $\pm$ 0.01	0.779 $\pm$ 0.01
	Собака	0.163 $\pm$ 0.02	NA	0.746 $\pm$ 0.004
	Человек	0.077 $\pm$ 0.01	NA	0.899 $\pm$ 0.03
6	Крыса	0.050 $\pm$ 0.008	0.014 $\pm$ 0.001	0.560 $\pm$ 0.048
	Собака	0.043 $\pm$ 0.002	NA	0.713 $\pm$ 0.041
	Человек	0.030 $\pm$ 0.003	NA	0.546 $\pm$ 0.018
7	Крыса	0.20 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.004	0.80 $\pm$ 0.04
	Собака	0.20 $\pm$ 0.01	NA	0.60 $\pm$ 0.03
	Человек	0.10 $\pm$ 0.004	NA	0.70 $\pm$ 0.03
8	Крыса	0.089 $\pm$ 0.01	0.0348 $\pm$ 0.0001	0.606 $\pm$ 0.008
	Собака	0.064 $\pm$ 0.01	NA	0.679 $\pm$ 0.066
	Человек	0.079 $\pm$ 0.006	NA	0.626 $\pm$ 0.037
22	Крыса	0.315 $\pm$ 0.03	0.067 $\pm$ 0.002	0.902 $\pm$ 0.006
	Собака	0.310 $\pm$ 0.01	NA	0.866 $\pm$ 0.034
	Человек	0.309 $\pm$ 0.008	NA	0.788 $\pm$ 0.031

Пример 74. Фармакокинетическое исследование на грызунах.

Самцы крыс Wistar (260 $\pm$ 50 г) использовались в качестве подопытных животных. Животных размещали индивидуально в клетке из полипропилена. За два дня до исследования самцов крыс Wistar анестезировали изофлюраном для хирургического размещения катетера в яремной вене. Крыс рандомизированно разделяли для перорального (3 мг/кг) и внутривенного (в/в) (1 мг/кг) введения (n=3/группа) и держали без пищи в течение ночи перед пероральным (п/о) введением. Однако крысам, предназначенным для внутривенного введения, доступ к пище и воде предоставляли *ad libitum*.

В предопределенный момент времени кровь собирали через яремную вену и дополняли эквивалентным объемом нормального солевого раствора. Собранную кровь помещали в маркированную пробирку Эппендорфа, содержащую 10 мкл гепарина в качестве антикоагулянта. Типично образцы крови собирали в следующие моменты времени: 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 и 24 ч после введения. Кровь центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Плазму отделяли и сохраняли в замороженном виде при -80°C до анализа. Концентрации тестируемых соединений определяли количественно в плазме способом качественной LC-MS/MS с использованием подходящего метода экстракции. Тестируемые соединения определяли количественно в диапазоне калибровки приблизительно 1-1000 нг/мл в плазме. Образцы исследования анализировали с помощью калибровочных образцов в партии и образцах контроля качества в составе партии.

Фармакокинетические параметры $C_{\max}$, AUC_t , $T_{1/2}$, клиренс и биодоступность (%F) вычисляли с помощью стандартной некомпартментной модели с использованием пакетов программ Phoenix WinNonlin 6.0.2 или 6.0.3 и результаты сведены в табл. 3.

Таблица 3

Пример	RO A	Носитель	C _{max} (нг/мл)	AUC ₀₋₁ (нг.ч/мл)	T _{1/2} (ч)	Клиренс (мл/мин/кг)	% F
1		0.25 % Tween 80 + 99.75 % НЕС раствор	1187 ± 81	5163 ± 464	2.9±0.2	-	76 ± 7
	в/в	5 % Pharmaso lve + 45 % Пропилен гликоль + 50 % PEG 400	-	2250 ± 190	3.0±0.3	7.3 ± 0.4	
2	п/о	0.25 % Tween 80 + 99.75 % НЕС раствор	632 ± 167	2161 ± 599	1.9±0.2	-	63 ± 17
	в/в	5 % Pharmaso lve + 45 % Пропилен гликоль + 50 % PEG 400	-	1146 ± 245	1.9±0.4	16.1 ± 2.8	
5	п/о	0.25 % Tween 80 + 99.75 % НЕС раствор	2681±66 4	7867±2857	3.3±0.3	-	90 ± 33
	в/в	5 % Pharmaso lve + 45 % Пропилен гликоль	-	2921±1432	4.0±1.7	7.1 ± 4.3	

		+ 50 % PEG 400					
7	n/o	0.25 % Tween 80 + 99.75 % HEC раствор	783 ± 254	2261 ± 471	1.4±0.2	-	67 ± 14
	в/в	5 % Pharmaso lve + 45 % Пропилен гликоль + 50 % PEG 400	-	1119 ± 119	2.0±0.4	14.2 ± 2.0	
8	n/o	0.25 % Tween 80 + 99.75 % HEC раствор	578 ± 170	2497 ± 842	2.3±1.8	-	45 ± 15
	в/в	5 % Pharmaso lve + 45 % Пропилен гликоль + 50 % PEG 400	-	1834 ± 562	1.8±0.3	9 ± 3	
12	n/o	0.25 % Tween 80 + 99.75	337 ± 141	1140 ± 114	3.0±3.0	-	62 ± 6

		% НЕС раствор					
	в/в	5 % Pharmaso Ive + 45 % Пропилен гликоль + 50 % PEG 400	-	609 ± 62	1.6±0.5	26.7 ± 3.4	
22	п/о	Вода для анализа	207 ± 76	1647 ± 147	4.8±2.8	-	60 ± 5
	в/в	Вода для инъекций	-	908 ± 198	7.6±1.7	17.1 ± 3.3	

ROA - путь введения.

Пример 75. Исследование проникновения в мозг на грызунах.

Самцы крыс Wistar (260±40 г) использовались в качестве подопытных животных. Трое животных были размещены в каждой клетке. Животным давали воду и пищу ad libitum в течение эксперимента и держали в условиях 12-часового цикла свет/темнота.

Проникновение в мозг определяли у крыс дискретным образом. За один день до дня введения самцов крыс Wistar акклиматизировали и рандомизированно распределяли по группам согласно их массе тела. В каждый момент времени (0,5, 1 и 2 ч) использовались n=3 животных.

Тестируемые соединения были соответствующим образом предварительно составлены и введены перорально в дозе (эквивалент свободного основания) 3 мг/кг. Образцы крови удаляли кардиальной пункцией, используя анестезию изофлюраном. Животных умерщвляли для сбора ткани мозга. Плазму отделяли и образцы мозга гомогенизировали и сохраняли в замороженном виде при -20°C до анализа. Концентрации тестируемых соединений в плазме и мозге определяли с помощью способа LC-MS/MS.

Тестируемые соединения определяли количественно в плазме и гомогенате мозга способом качественной LC-MS/MS с использованием подходящего метода экстракции. Тестируемые соединения были определены количественно в диапазоне калибровки 1-500 нг/мл в плазме и гомогенате мозга. Образцы исследования анализировали с помощью калибровочных образцов в партии и образцах контроля качества в составе партии. Вычисляли степень отношения мозг-плазма (Cb/Cp) и результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Прим.	Проникновение в мозг крысы при однократном введении (Cb/Cp) в количестве 3 мг/кг, п/о
1	0,30 ± 0,05
2	0,95 ± 0,17
5	0,50 ± 0,04
6	2,09 ± 0,46
7	0,61 ± 0,01
8	1,1 ± 0,1
10	2,40 ± 0,30
11	1,59 ± 0,35
12	1,64 ± 0,12

Пример 76. Модель задачи распознавания объектов.

Свойства улучшения когнитивной функции соединений согласно этому изобретению оценивали при помощи этой модели.

Самцы крыс Wistar (8-10 недель) использовались в качестве подопытных животных. Четырех животных размещали в каждой клетке. Животных держали в условиях 20%-ной пищевой депривации со

дня, предшествующего эксперименту. Воду давали *ad libitum* в течение эксперимента. Животных держали в условиях 12-часового цикла свет/темнота при комнатных температуре и влажности. Эксперимент проводили на открытой области, отмеченной акриловой краской. Крыс приучали к индивидуальным аренам (открытая область) в течение 1 ч в отсутствие каких-либо объектов в день 1.

Одна группа из 12 крыс получала носитель, и другая группа животных получала соединение формулы (I) перед фазами ознакомления (T_1) и выбора (T_2). Во время фазы ознакомления, (T_1), крыс размещали индивидуально на арене на 3 мин, в течение которых два идентичных объекта (a_1 и a_2) помещали в 10 см от стены. Через 24 ч после T_1 проводили испытание на анализ долговременной памяти.

Тех же крыс помещали на ту же арену, как в испытании T_1 . Во время фазы выбора (T_2) крысам давали исследовать арену в течение 3 мин в присутствии копии знакомого объекта (a_3) и одного нового объекта (b). Во время испытания T_1 и T_2 исследования каждого объекта (определяемое как фыркание, облизывание, жевание или движения усов при перемещении носа к объекту на расстоянии меньше чем 1 см) регистрировали с помощью секундомера.

T_1 является общим временем, потраченным на исследование знакомых объектов (a_1+a_2).

T_2 является общим временем, потраченным на исследование знакомого объекта и нового объекта (a_3+b).

Дискриминационный индекс=время, проведенное с новым объектом/(время, проведенное с новым и знакомым объектом).

Анализ распознавания объектов проводили, как описано в Behavioural Brain Research, 1988, 31, 47-59 и результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5

Прим.	Доза мг/кг, п/о	Среднее время исследования $\pm$ S.E.M (сек)		Вывод
		Знакомый	Новый объект	
		объект		
1	0,3	11,31 $\pm$ 1,07	28,92 $\pm$ 3,54	Активный
2	1	9,06 $\pm$ 1,75	15,09 $\pm$ 2,19	Активный
5	0,3	11,00 $\pm$ 0,81	19,64 $\pm$ 1,74	Активный
6	3	15,75 $\pm$ 1,71	23,67 $\pm$ 2,62	Активный
7	1	9,16 $\pm$ 0,83	19,56 $\pm$ 1,96	Активный
8	0,3	7,59 $\pm$ 1,02	14,36 $\pm$ 1,56	Активный

Пример 77. Модель задачи распознавания объектов - провокация скополамином.

Свойства улучшения познания соединений согласно этому изобретению оценивали при помощи этой модели.

Самцы крыс Wistar (8-10 недель) использовались в качестве подопытных животных. Четырех животных размещали в каждой клетке. Животных держали в условиях 20%-ной пищевой депривации со дня, предшествующего эксперименту. Воду давали *ad libitum* в течение эксперимента. Животных держали в условиях 12-часового цикла свет/темнота при комнатных температуре и влажности. Эксперимент проводили на открытой области, отмеченной акриловой краской. Крыс приучали к индивидуальным аренам (открытая область) в течение 1 ч в отсутствие каких-либо объектов в день 1.

Крысы получали носитель или носитель и скополамин, или соединение формулы (I) и скополамин, перед ознакомлением (T_1). Во время фазы ознакомления, (T_1), крыс размещали индивидуально на арене на 3 мин, в течение которых два идентичных объекта (a_1 и a_2) помещали в 10 см от стены. Через 3 мин после T_1 , проводили испытание на тест на запоминание выполнялось. Тех же крыс помещали на ту же арену, как в испытании T_1 . Во время фазы выбора (T_2) крысам давали исследовать арену в течение 3 мин в присутствии копии знакомого объекта (a_3) и одного нового объекта (b). Во время испытания T_1 и T_2 , исследования каждого объекта (определяемое как фыркание, облизывание, жевание или движения усов при перемещении носа к объекту на расстоянии меньше чем 1 см) регистрировали с помощью секундомера.

T_1 является общим временем, потраченным на исследование знакомых объектов (a_1+a_2).

T_2 является общим временем, потраченным на исследование знакомого объекта и нового объекта (a_3+b).

Дискриминационный индекс=время, проведенное с новым объектом/(время, проведенное с новым и знакомым объектом).

Таблица 6

Прим.	Доза мг/кг, п/о	Среднее время исследования $\pm$ S.E.M (сек)		Вывод
		Знакомый объект	Новый объект	
1	0,3	7,54 $\pm$ 1,93	13,07 $\pm$ 1,79	Активный
2	0,3	14,29 $\pm$ 1,92	20,93 $\pm$ 2,89	Активный
5	1	13,61 $\pm$ 1,79	25,72 $\pm$ 3,67	Активный

Пример 78. Контекстная задача выработки условного рефлекса страха.

Эксперимент проводили в течение двух дней. В день 1 крыс помещали в камеру для наблюдения оперантного поведения и давали акклиматизироваться в течение 2 мин. Крысы получали неизбежный удар в лапу (безусловный стимул (US): удар током 0,5-0,7 мА в течение 3 с). После интервала 1 мин удары повторяли для поставки в общей сложности трех US. Крысами после обучения вводили носитель или тестируемое соединение. Скополамин (0,3 мг/кг, подкожно) вводили спустя 120 мин после обучения.

В день 2 крыс помещали в камеру для наблюдения оперантного поведения и время полного замораживания оценивали в течение 5 мин. Результаты приведены на фиг. 1.

Пример 79. Оценка уровней sAPPa коры в мозге крысы.

Экспериментальная процедура.

Самцов крыс Wistar (250+45 г) рандомизированно разделяли на группы, получавшие разные виды лечения (n=5 на группу). Контрольной группе крыс вводили внутрибрюшинную (в/б) инъекцию носителя (99,75% 0,25%-ной гидроксипропилцеллюлозы ННХ+0,25% tween 80 для примеров 8 и 22; 5% Pharmasolve+45% пропиленгликоля+50% полиэтиленгликоля 400 для примера 1). Крысам в контрольных группах назначали одну дозу тестируемого соединения, которую вводили единственной внутрибрюшинной инъекцией тестируемого соединения (объем дозы 2 мл/кг). Крыс умерщвляли сворачиванием шеи через 60 мин после лечения. Мозги быстро изолировали и кору анализировали при -20°C. Кору немедленно сохраняли на сухом льду и взвешивали, после чего сохраняли при -80°C до определения количества sAPPa с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).

Получение пробы.

1. Таблетки коктейля ингибитора протеазы (полный мини-, Make-Roche; 1 таблетка для 8 мл) добавляли к солевому раствору буфера Трис (TBS) до использования буфера для обработки ткани.

2. Ткани коры оттаивали и гомогенизировали в пяти объемах TBS и раствор центрифугировали при 15000 об/мин при 4°C в течение 90 мин.

3. Супернатант отбрасывали и гомогенизировали в пяти объемах TBS. Образцы центрифугировали при 15000 об/мин при 4°C в течение 30 мин.

4. Супернатант отбрасывали и осадок обрабатывали ультразвуком в десяти объемах 50 мМ буфера Трис (pH: 7,6), содержащего 6М Гуанидин-HCl. Обработку ультразвуком повторяли четыре раза с продолжительностью по пять секунд каждый раз.

5. Полученную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин и центрифугировали при 15000 об/мин при 4°C в течение 30 мин. Супернатант разбавляли 100× буфером EIA до добавления в предварительно покрытые планшеты ELISA.

Измерение sAPPa с помощью набора ELISA.

Для исследования влияния острого лечения тестируемым соединением на уровни sAPPa экспрессию этого белка измеряли в образцах, полученных из гомогенатов мозга подвергнутых и не подвергнутых лечению крыс путем использования теста ELISA. Вся процедура была осуществлена, как описано в руководстве набора ELISA (Mouse/Rat sAPPa (highly sensitive) assay kit, Catalog Number: JP27419, Immuno-Biological Laboratories Co. Ltd, Гамбург, Германия).

Статистический анализ.

Статистические анализы проводили с помощью Graph Pad Prism (версия 4). Результаты представлены как средние $\pm$ SEM уровни sAPPa, выраженные как процент от контрольных значений, полученных на крысах, обработанных носителем. Статистическую значимость после лечения оценивали с помощью однонаправленного ANOVA с последующим анализом Даннетта и уровень значимости был установлен ниже значения p, меньшего чем 0,05, и результаты представлены в табл. 7.

Таблица 7. Эффект тестируемых соединений на уровни sAPPa коры у самцов крыс Wistar

Прим.	Уровни sAPPa (% носителя)			Вывод
	1,0 мг/кг, в/б	3,0 мг/кг, в/б	10,0 мг/кг, в/б	
1	155 ± 6**	153 ± 7**	142 ± 6**	Активный
8	120 ± 17	137 ± 14	173 ± 10**	Активный

Значения представляют собой средние±SEM (n=5/группа). ** p <0,01 vs. носитель (пост-тест Даннетта).

Пример 80. Модуляция мозгового кровотока во фронтальной коре.

Эффект тестируемого соединения на модуляцию мозгового кровотока оценивали с использованием крыс.

Крыс акклиматизировали к лабораторной среде в течение по меньшей мере 7 дней. Крыс (300-350 г) размещали в группах по четыре в контролируемой среде (температура = 21 ± 3°C; влажность = 30-70%) и держали в условиях 12-часового цикла свет/темнота с включением света в 7:00. Пищу и воду обеспечивали ad libitum.

Крыс анестезировали 12%-ным уретаном (внутрибрюшинно). Температуру тела животных поддерживали при 37°C с помощью электрогрелки и ректального температурного зонда. Маленький разрез осуществляли в одной из вентральных сторон задней конечности и бедренную вену катетеризовали катетером PE10 для введения лекарственного средства. Затем животное помещали в стереотаксическую структуру и срединный разрез осуществляли для экспонирования черепа. Просверливали трепанационное отверстие на фронтальной корой (стереотаксические координаты 1 мм перед и 4 мм вбок от бregмы). Кислород поставляли через носовой обтекатель стереотаксического аппарата, связанного с контролируемым поставщиком газа с потоком 200 мл/мин. Лазерный Допплеровский зонд (AD Instruments Inc.) помещали над отверстием для контроля мозгового кровотока. Лазерный Допплеровский зонд был подсоединен к компьютеризированной системе сбора и накопления данных (PowerLab 16/30, AD Instruments Inc.). Носитель или тестируемое соединение вводили внутривенно после того, как мозговой кровоток был стабилен в течение 30 мин. Данные мозгового кровотока собирали в течение дальнейших 90 мин. Полученные данные вычисляли как увеличение процента относительно базового уровня тока крови в покое. Данные для тестируемого соединения сравнивали с контрольной группой с помощью однонаправленного ANOVA с пост-тестом Bonferroni.

Ссылка.

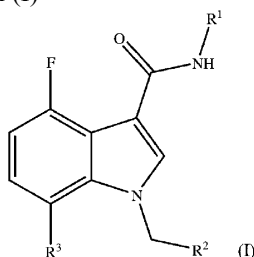
Psychopharmacology (Berl). 2013, 225, 21-30.

Результат.

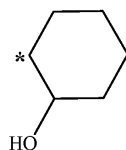
Пример 1 значительно увеличивал мозговой кровоток, как показано на фиг. 2.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

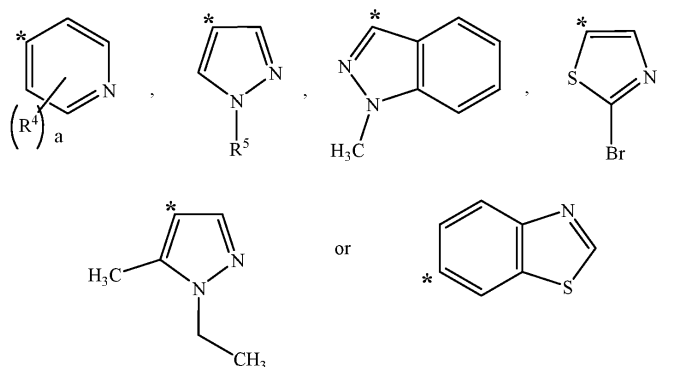
1. Соединение фториндола формулы (I)



в которой
R¹ обозначает



R² обозначает



причем * обозначает точку присоединения;

R^3 является фтором или водородом;

R^4 является галогеном, $-S-CH_3$ или водородом;

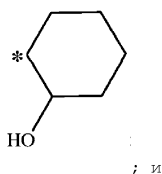
R^5 является $-CH_3$, $-CH_2CH_2F$ или водородом;

$a=1$ или 2 ;

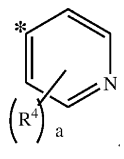
или его изотопная форма, стереоизомер или фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, в котором

R^1 обозначает

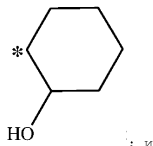


R^2 обозначает

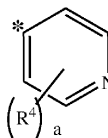
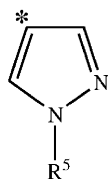


3. Соединение по п.1, в котором

R^1 обозначает



R^2 обозначает



4. Соединение по любому из пп.1-3, выбранное из группы, состоящей из следующих соединений:

$N-[(1S,2S)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(1\text{-метил-}1H\text{-пиразол-}4\text{-илметил})-4\text{-фтор-}1H\text{-индол-}3\text{-карбоксамид}$;

$N-[(1S,2S)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(2\text{-хлорпиридин-}4\text{-илметил})-4\text{-фтор-}1H\text{-индол-}3\text{-карбоксамид}$;

$N-[(1R,2R)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(1\text{-метил-}1H\text{-пиразол-}4\text{-илметил})-4\text{-фтор-}1H\text{-индол-}3\text{-карбоксамид}$;

$N-[(1S,2S)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(1\text{-метил-}1H\text{-индазол-}3\text{-илметил})-4,7\text{-дифтор-}1H\text{-индол-}3\text{-карбоксамид}$;

$N-[(1S,2S)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(1\text{-метил-}1H\text{-пиразол-}4\text{-илметил})-4,7\text{-дифтор-}1H\text{-индол-}3\text{-карбоксамид}$;

$N-[(1S,2S)-2\text{-гидроксициклогексил}]-1-(2\text{-хлорпиридин-}4\text{-илметил})-4,7\text{-дифтор-}1H\text{-индол-}3\text{-}$

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-фторпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(3-фторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(3-фторпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2,5-дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2,5-дифторпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2,3-дифторпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-пиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-бромтиазол-5-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-этил-5-метил-1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(бензотиазол-6-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(1-(2-фторэтил)-1H-пиразол-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанилпиридин-4-илметил)-4,7-дифтор-1H-

индол-3-карбоксамид и

N-[(1S,2S)-2-гидроксициклогексил]-1-(2-метилсульфанилпиридин-4-илметил)-4-фтор-1H-индол-3-

карбоксамид;

или его фармацевтически приемлемая соль.

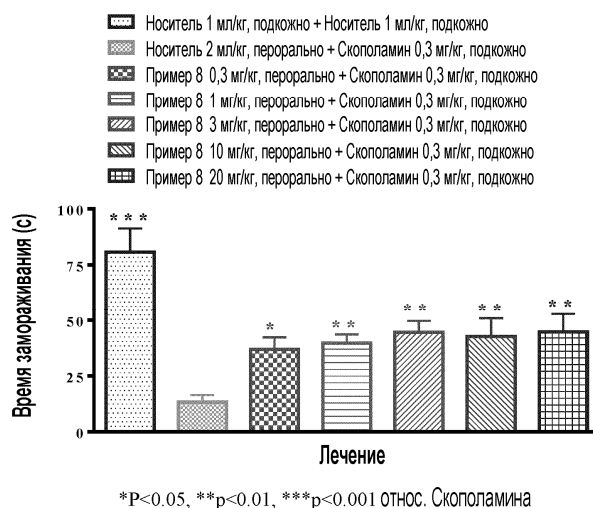
5. Фармацевтическая композиция для клинических состояний, опосредованных мускариновым рецептором M1, включающая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-4 и фармацевтически приемлемые эксципиенты или носители, где клинические состояния выбраны из болезни Альцгеймера, шизофрении, когнитивных нарушений, боли или нарушений сна.

6. Применение соединения по любому из пп.1-4 для получения лекарственного средства для лечения нарушения, выбранного из болезни Альцгеймера, шизофрении, когнитивных нарушений, боли или нарушений сна.

7. Применение соединения по любому из пп.1-4 для лечения нарушения, связанного с мускариновым рецептором M1.

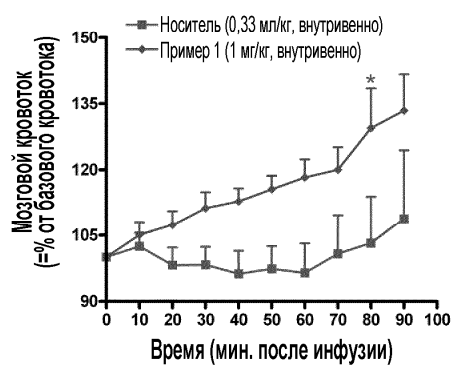
8. Применение по п.7, в котором нарушение, связанное с мускариновым рецептором M1, выбрано из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, шизофрении, когнитивных нарушений, боли или нарушений сна.

Эффект тестируемого соединения в контекстной задаче выработки условного рефлекса на страх



Фиг. 1

Эффект тестируемого соединения на модуляцию
мозгового кровообращения во фронтальной коре



* $p < 0.05$ относ. носителя, Двусторонний ANOVA с последующими пост-тестами Bonferroni, $n=6-8$

Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2