

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036851**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.12.28

(51) Int. Cl. **C07D 487/04** (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)

(21) Номер заявки
201891067

(22) Дата подачи заявки
2016.11.02

(54) **[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-А]ПИРИМИДИН-7-ИЛЬНОЕ СОЕДИНЕНИЕ**

(31) **15192661.5; 15192966.8**

(56) **WO-A1-2015164508**

(32) **2015.11.02; 2015.11.04**

(33) **EP**

(43) **2018.10.31**

(86) **PCT/EP2016/076420**

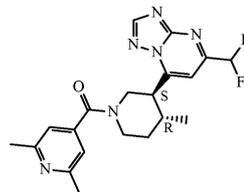
(87) **WO 2017/076900 2017.05.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:
**Бейнстерс Петрус Якобус Йоханнес
Антониус, Гейсен Хенрикус Якобус
Мария, Дринкенбург Вилхелмус
Хелена Игнатиус Мария, Ахнаау
Абдаллах (BE)**

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

(57) Изобретение относится к новому [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинильному производному в качестве ингибитора фосфодиэстеразы 2 (PDE2). Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим соединение, способам получения таких соединений и композиций и применению таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена PDE2, таких как неврологические и психические расстройства



(1)

B1**036851****036851****B1**

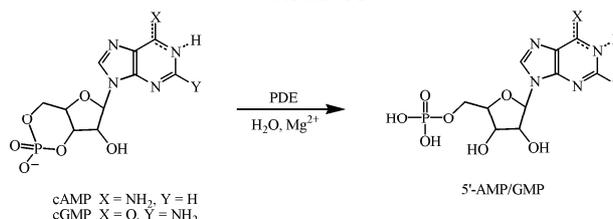
Область изобретения

Настоящее изобретение относится к новому [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинильному производному в качестве ингибитора фосфодиэстеразы 2 (PDE2). Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим соединение, способам получения таких соединений и композиций и применению таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена PDE2, таких как неврологические и психические расстройства.

Предпосылки изобретения

Фосфодиэстеразы (PDE) представляют собой семейство ферментов, кодируемых 21 геном и подразделенных на 11 отдельных семейств согласно структурным и функциональным свойствам. Эти ферменты осуществляют метаболическую инактивацию широко распространенных внутриклеточных вторичных мессенджеров, циклического 3',5'-аденозинмонофосфата (сAMP) и циклического 3',5'-гуанозинмонофосфата (сGMP). Эти два мессенджера регулируют большое разнообразие биологических процессов, в том числе выработку и действие провоспалительных медиаторов, функционирование ионных каналов, сокращение мышц, коммитирование, дифференцировку, апоптоз, липогенез, гликогенолиз и глюконеогенез. Они осуществляют это посредством активации протеинкиназы A (PKA) и протеинкиназы G (PKG), которые, в свою очередь, фосфорилируют большое разнообразие субстратов, в том числе факторы транскрипции и ионные каналы, которые регулируют многочисленные физиологические реакции. В случае нейронов предусматриваются активация сAMP- и сGMP-зависимых киназ и последующее фосфорилирование белков, вовлеченных в быструю регуляцию синаптической передачи, а также в дифференцировку и выживаемость нейронов. Внутриклеточные концентрации сAMP и сGMP точно регулируются скоростью биосинтеза с помощью циклаз и скоростью расщепления с помощью PDE. PDE представляют собой гидролазы, которые инактивируют сAMP и сGMP посредством каталитического гидролиза 3'-сложноэфирной связи с образованием неактивного 5'-монофосфата (схема А).

Схема А



На основании субстратной специфичности семейства PDE можно разделить на три группы: i) сAMP-специфические PDE, которые включают PDE4, 7 и 8; ii) сGMP-селективные ферменты PDE5, 6 и 9 и iii) PDE, действующие на два субстрата, PDE1, 2 и 3, а также PDE10 и 11.

Более того, для PDE характерна дифференциальная экспрессия во всем организме, в том числе в центральной нервной системе. Вследствие этого разные изоферменты PDE могут иметь разные физиологические функции. Соединения, которые селективно ингибируют семейства или изоферменты PDE, могут проявлять особую терапевтическую активность, меньшее количество побочных эффектов или и то, и другое.

Фосфодиэстераза 2A (PDE2A) инактивирует внутриклеточные механизмы передачи сигналов, которые зависят от передачи сигналов с помощью циклических нуклеотидов, опосредованной сAMP и сGMP, путем их расщепления (путем гидролиза важных с биологической точки зрения вторичных мессенджеров сAMP и сGMP с получением непередающих сигналы AMP и GMP соответственно). Такие сигнальные пути, как известно, играют роль в регуляции генов, вовлеченных в индукцию синаптической пластичности.

Фармакологическое ингибирование PDE2, таким образом, обуславливает повышение уровней синаптической пластичности (коррелята, лежащего в основе обучения и формирования памяти), что указывает на то, что модуляция PDE2A может представлять собой цель для облегчения нарушений познавательных способностей, наблюдаемых у людей, страдающих такими расстройствами, как, например, шизофрения, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и другие расстройства ЦНС, ассоциированные с когнитивной дисфункцией.

Фосфодиэстераза 2A (PDE2A) экспрессируется в головном мозге в большем количестве по сравнению с периферическими тканями. Высокий уровень экспрессии PDE2 в лимбической системе (изокортексе, гиппокампе, миндалинном теле, поводке эпителиума, базальном ядре) указывает на то, что PDE2 может модулировать передачу сигнала между нейронами, связанную с эмоцией, восприятием, вниманием, научением и памятью. Кроме того, PDE2 экспрессируется в прилежащем ядре, обонятельной луковице, обонятельном бугорке и миндалинном теле, что подтверждает предположение, что PDE2 может быть также вовлечена в тревожность и депрессию (см., например, Lakics, V. et al. (2010) Quantitative comparison of phosphodiesterase mRNA distribution in human brain and peripheral tissues. *Neuropharmacol.* 59, 367-374).

Кроме того, было показано, что ингибиторы PDE2 полезны в ослаблении индуцированной окисли-

тельным стрессом тревожности, что подтверждает их применение в лечении тревожности при нейропсихиатрических и нейродегенеративных расстройствах, в которые вовлечен окислительный стресс, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и рассеянный склероз.

Было показано, что ингибиторы PDE2 усиливают долговременную потенциацию синаптической передачи и улучшают запоминание и консолидацию памяти при распознавании объекта и в тестах социальной ориентации у крыс. Более того, было показано, что ингибиторы PDE2 устраняют ослабление кратковременной памяти, индуцированное МК-801, в Т-образном лабиринте у мышей. Также было показано, что ингибиторы PDE2 проявляют активность в тесте принудительного плавания и моделях со светлой/темной камерой; а также демонстрируют эффекты, аналогичные анксиолитикам, в тестах с приподнятым крестообразным лабиринтом, платформой с отверстиями и тесте открытого поля и предотвращают вызванные стрессом изменения апоптоза и поведения.

Таким образом, ингибиторы PDE2 могут применяться в лечении ослабления памяти, нарушений познавательных способностей, тревожности, биполярного расстройства и депрессии.

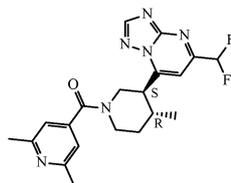
В WO 2015/164508 (Dart Neuroscience, LLC) раскрыты замещенные [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинильные соединения в качестве ингибиторов PDE2.

Все еще существует необходимость в соединениях, являющихся ингибитором PDE2, с преимущественным сочетанием свойств, таких как, например, селективность в отношении PDE2, хорошая химическая стабильность и захват мишени путем занятия PDE2 и повышение уровней циклических нуклеотидов в имеющих важное значение областях головного мозга.

Краткое описание изобретения

Целью настоящего изобретения является обеспечение нового ингибитора PDE2, который может быть потенциально применимым в лечении заболеваний, связанных с активностью фермента PDE2.

Таким образом, настоящее изобретение относится к соединению 1



(1)

или его фармацевтически приемлемой соли.

В конкретном варианте осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой хлористоводородную соль, более конкретно соль 2HCl.

Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и вышеуказанное соединение 1 или его фармацевтически приемлемые соль в терапевтически эффективном количестве. Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, полученная путем смешивания вышеуказанного соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли в терапевтически эффективном количестве и фармацевтически приемлемого носителя. Иллюстрацией настоящего изобретения является способ получения фармацевтической композиции, предусматривающий смешивание вышеуказанного соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли в терапевтически эффективном количестве и фармацевтически приемлемого носителя.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства центральной нервной системы, опосредуемого активностью фосфодиэстеразы 2, выбранного из группы психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; наркотической зависимости; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства; предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли.

Также примером настоящего изобретения является применение соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата, обладающего ингибирующей активностью в отношении фосфодиэстеразы 2.

Дополнительным примером настоящего изобретения является применение фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, в качестве лекарственного препарата, обладающего ингибирующей активностью в отношении фосфодиэстеразы 2.

Дополнительным примером настоящего изобретения является применение соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или предупреждения расстройства центральной нервной системы, опосредуемого активностью фосфодиэстеразы 2, выбранного из группы психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; расстройств, связанных с употреблением определенных веществ; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; рас-

стройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства.

Другим примером настоящего изобретения является применение соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, описанных выше, для лечения: (a) болезни Альцгеймера, (b) умеренного когнитивного нарушения, (c) возрастного когнитивного нарушения, (d) деменции, (e) деменции с тельцами Леви, (f) деменции, ассоциированной с инсультом, (g) деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, (h) депрессивных расстройств и (i) тревожных расстройств у субъекта, нуждающегося в этом.

Описание графических материалов

На фиг. 1 показан эффект соединения 1 в отношении уровней pGlu1 в гиппокампе крыс Спраг-Дуули (10 и 40 мг/кг соединения 1). Показаны вестерн-блоты от отдельных крыс (n=5 на обработку) (фиг. 1a). На фиг. 1b показана количественная оценка (уровней pGlu1, нормализованных относительно уровней общего Glu1).

На фиг. 2 показана занятость PDE2 соединением 1.

На фиг. 3 показан эффект соединения 1 в отношении базальной синаптической передачи в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 4 показан дозозависимый эффект соединения 1 в отношении базальной синаптической передачи в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 5a и 5b показан эффект соединения 1 в отношении индукции с помощью слабой HFS долговременной потенциации (LTP) в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 6 показан эффект [CAS 1394033-54-5] 1 в отношении базальной синаптической передачи в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 7 показано измерение уровней cGMP в CSF у собак породы Marshall Beagle.

На фиг. 8a показана кривая ввода/вывода для наклона полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP), который регистрировали в зубчатой извилине; зарегистрированные данные образца показывают средние ответы в виде наклона, соответствующего амплитуде популяционного спайка (PSA), с 30-минутными интервалами; на фиг. 8b показано, что LTP, индуцированная высокочастотной стимуляцией (HFS), повышалась с помощью соединения 1 в синапсах перфорантного пути по сравнению с условием применения среды-носителя; средний нормализованный наклон PSA до и после HFS нанесен на график в зависимости от времени; вставленные ступенчатые диаграммы показывают средние данные за 30-минутные интервалы до и после процедуры тетанизации; на фиг. 8c показаны устойчивые увеличения наклона fEPSP. *p<0,05 соединение 1 по сравнению со средой-носителем в каждые 30-мин интервалы времени.

Подробное описание изобретения

Определения.

Термин "субъект", используемый в данном документе, относится к животному, предпочтительно к млекопитающему, наиболее предпочтительно к человеку, которое является или являлось объектом лечения, наблюдения или эксперимента.

Термин "терапевтически эффективное количество", используемый в данном документе, означает такое количество активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский ответ в системе тканей, у животного или человека, который стремится получить исследователь, ветеринар, врач или другой клиницист, который включает облегчение симптомов заболевания или расстройства, лечение которого осуществляют.

Подразумевается, что используемый в данном документе термин "композиция" охватывает продукт, содержащий определенные ингредиенты в определенных количествах, а также любой продукт, который получают прямо или опосредованно из комбинаций определенных ингредиентов в определенных количествах.

Термин "хозяин" обозначает млекопитающее, в частности людей, мышей, собак и крыс.

Термин "клетка" обозначает клетку, экспрессирующую или содержащую фермент PDE2.

Подразумевается, что используемый в данном документе термин "соединение по настоящему изобретению" включает соединение 1, а также его фармацевтически приемлемые соли.

Любая химическая формула, используемая в данном документе, связи в которой показаны только в виде сплошных линий, а не в виде сплошных клиновидных или пунктирных клиновидных связей, или иным образом показанная как имеющая конкретную конфигурацию (например, R, S) вокруг одного или нескольких атомов, предусматривает каждый возможный стереоизомер или смесь двух или более стереоизомеров.

Абсолютную конфигурацию определяют согласно системе Кана-Ингольда-Прелога. Конфигурация по асимметрическому атому указана с помощью либо R, либо S.

Если указан конкретный стереоизомер, это означает, что данный стереоизомер практически не содержит других стереоизомеров, т.е. связан с менее 50%, предпочтительно с менее 20%, более предпочтительно с менее 10%, еще более предпочтительно с менее 5%, в частности с менее 2% и наиболее предпочтительно с менее 1% других стереоизомеров.

Что касается применения в медицине, соли соединения 1 относятся к нетоксичным "фармацевтически приемлемым солям". Однако при получении соединения 1 или его фармацевтически приемлемых солей могут быть применимы другие соли. Подходящие фармацевтически приемлемые соли соединения 1 включают соли присоединения кислоты, которые могут быть образованы, например, путем смешивания раствора соединения с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, такой как хлористоводородная кислота, серная кислота, фумаровая кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, уксусная кислота, бензойная кислота, лимонная кислота, винная кислота, угольная кислота или фосфорная кислота. Иллюстративные кислоты, которые можно применять в получении фармацевтически приемлемых солей, включают без ограничения следующие: уксусную кислоту, 2,2-дихлоруксусную кислоту, ацилированные аминокислоты, адипиновую кислоту, альгиновую кислоту, аскорбиновую кислоту, L-аспарагиновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, бензойную кислоту, 4-ацетамидобензойную кислоту, (+)-камфорную кислоту, камфорсульфоновую кислоту, каприновую кислоту, капроновую кислоту, каприловую кислоту, коричную кислоту, лимонную кислоту, цикламную кислоту, этан-1,2-дисульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту, муравьиную кислоту, фумаровую кислоту, галактаровую кислоту, гентизиновую кислоту, глюкогептоновую кислоту, D-глюконовую кислоту, D-глюкуроновую кислоту, L-глутаминовую кислоту, бета-оксoglутаровую кислоту, гликолевую кислоту, гиппуровую кислоту, бромистоводородную кислоту, соляную кислоту, (+)-L-молочную кислоту, (\pm)-DL-молочную кислоту, лактобионовую кислоту, малеиновую кислоту, (-)-L-яблочную кислоту, малоновую кислоту, (\pm)-DL-миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, нафталин-2-сульфоновую кислоту, нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту, 1-гидрокси-2-нафтойную кислоту, никотиновую кислоту, азотную кислоту, олеиновую кислоту, оротовую кислоту, щавелевую кислоту, пальмитиновую кислоту, памовую кислоту, фосфорную кислоту, L-пироглутаминовую кислоту, салициловую кислоту, 4-аминосалициловую кислоту, себациновую кислоту, стеариновую кислоту, янтарную кислоту, серную кислоту, дубильную кислоту, (+)-L-винную кислоту, тиоциановую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту, трифторметилсульфоновую кислоту и ундециленовую кислоту.

Фармакология.

Соединение согласно настоящему изобретению ингибирует активность фермента PDE2, в частности PDE2A, и, следовательно, повышает уровни cAMP или cGMP в клетках, экспрессирующих PDE2. Соответственно ингибирование активности фермента PDE2 может быть применимым в лечении заболеваний, обусловленных недостаточными количествами cAMP или cGMP в клетках. Ингибиторы PDE2 также могут быть полезны в тех случаях, когда повышение количества cAMP или cGMP выше нормальных уровней приводит в результате к терапевтическому эффекту. Ингибиторы PDE2 можно применять для лечения неврологических и психических расстройств.

Следовательно, настоящее изобретение относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению в качестве лекарственного препарата, а также к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата. Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению в лечении или предупреждении, в частности в лечении, состояния у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которого зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им. Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения, в частности лечения, состояния у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которого зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению в лечении или предупреждении различных неврологических и психических расстройств, ассоциированных с нарушением функции фосфодиэстеразы 2, у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которых зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения различных неврологических и психических расстройств, ассоциированных с нарушением функции фосфодиэстеразы 2, у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которых зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Если говорится, что настоящее изобретение относится к применению соединения 1, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции согласно настоящему изобретению для изготовления ле-

карственного препарата, например, для лечения субъекта, например млекопитающего, то подразумевается, что такое применение следует понимать в определенных сферах как способ, например, лечения субъекта, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в таком, например, лечении, эффективного количества соединения I, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции согласно настоящему изобретению.

В частности, показания, которые можно лечить с помощью ингибиторов PDE2 в отдельности либо в комбинации с другими лекарственными средствами, включают без ограничения такие заболевания, которые, как полагают, частично опосредованы базальными ганглиями, префронтальной корой и гиппокампом.

Эти показания включают неврологические и психические расстройства, выбранные из психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; расстройств, связанных с употреблением определенных веществ; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта; аутистического расстройства.

В частности, психотические расстройства и состояния, ассоциированные с нарушением функции PDE2, включают одно или несколько из следующих состояний или заболеваний: шизофрения, например, параноидального, дезорганизованного, кататонического, недифференцированного или резидуального типа; шизофреноформное расстройство; шизоаффективное расстройство, как, например, бредового или депрессивного типа; психотическое расстройство, вызванное употреблением определенных веществ, такое как психоз, вызванный употреблением алкоголя, амфетамина, марихуаны, кокаина, галлюциногенных веществ, летучих веществ наркотического действия, опиоидов или фенциклидина; расстройство личности параноидального типа и расстройство личности шизоидного типа.

В частности, тревожные расстройства включают паническое расстройство; агорафобию; специфическую фобию, социофобию; обсессивно-компульсивное расстройство; посттравматическое стрессовое расстройство, острое стрессовое расстройство и генерализованное тревожное расстройство.

В частности, двигательные расстройства включают болезнь Хантингтона и дискинезию; болезнь Паркинсона; синдром беспокойных ног и эссенциальный тремор. Кроме того, могут быть включены синдром Туретта и другие тиковые расстройства.

В частности, расстройство центральной нервной системы представляет собой расстройство, связанное с употреблением определенных веществ, выбранное из группы злоупотребления алкоголем; алкогольной зависимости; алкогольного абстинентного синдрома; алкогольного абстинентного синдрома с делирием; психотического расстройства, вызванного употреблением алкоголя; амфетаминовой зависимости; амфетаминового абстинентного синдрома; кокаиновой зависимости; кокаинового абстинентного синдрома; никотиновой зависимости; никотинового абстинентного синдрома; опиоидной зависимости и опиоидного абстинентного синдрома.

В частности, аффективные расстройства и аффективные эпизоды включают депрессию, манию и биполярные расстройства. Предпочтительно, аффективное расстройство выбрано из группы биполярных расстройств (I и II типа); циклотимического расстройства; дистимического расстройства; большого депрессивного расстройства; терапевтически резистентной депрессии и аффективного расстройства, вызванного употреблением определенных веществ.

В частности, нейродегенеративные расстройства включают болезнь Паркинсона; болезнь Хантингтона; деменцию, такую как, например, болезнь Альцгеймера; мультиинфарктную деменцию; СПИД-ассоциированную деменцию или лобно-височную деменцию. Нейродегенеративное расстройство или состояние включает дисфункцию реакций стриарных средних шипиковых нейронов.

В частности, расстройства или состояния, включающие в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности, включают деменцию, такую как болезнь Альцгеймера; мультиинфарктную деменцию; деменцию, обусловленную болезнью с тельцами Леви; алкогольную деменцию или персистирующую деменцию, вызванную употреблением определенных веществ; деменцию, ассоциированную с внутричерепными опухолями или черепно-мозговой травмой; деменцию, ассоциированную с болезнью Хантингтона; деменцию, ассоциированную с болезнью Паркинсона; СПИД-ассоциированную деменцию; деменцию, обусловленную болезнью Пика; деменцию, обусловленную болезнью Крейтцфельда-Якоба; делирий; амнестическое расстройство; посттравматическое стрессовое расстройство; инсульт; прогрессирующий надъядерный паралич; олигофрению; нарушение способности к обучению; синдром дефицита внимания/гиперактивности (ADHD); умеренное когнитивное расстройство; синдром Аспергера; возрастное когнитивное нарушение и когнитивное нарушение, связанное с восприятием, вниманием, обучением или памятью.

В частности, расстройства, связанные с запоминанием и консолидацией памяти, включают расстройства памяти, как, например, возрастная потеря памяти, амнезия.

Предпочтительно психотическое расстройство выбрано из группы шизофрении, бредового расстройства, шизоаффективного расстройства, шизофреноформного расстройства и психотического расстройства, вызванного употреблением определенных веществ.

Предпочтительно расстройство центральной нервной системы представляет собой расстройство личности, выбранное из группы обсессивно-компульсивного расстройства личности и шизоидного, шизотипического расстройства.

Предпочтительно расстройство центральной нервной системы представляет собой аффективное расстройство, выбранное из группы биполярных расстройств (I и II типа), циклотимического расстройства, депрессии, дистимического расстройства, большого депрессивного расстройства; терапевтически резистентной депрессии и аффективного расстройства, вызванного употреблением определенных веществ.

Предпочтительно расстройство центральной нервной системы представляет собой синдром дефицита внимания/гиперактивности.

Предпочтительно расстройство центральной нервной системы представляет собой когнитивное расстройство, выбранное из группы делирия, персистирующего делирия, вызванного употреблением определенных веществ, деменции, деменции, обусловленной ВИЧ-заболеванием, деменции, обусловленной болезнью Хантингтона, деменции, обусловленной болезнью Паркинсона, деменции альцгеймеровского типа, персистирующей деменции, вызванной употреблением определенных веществ, и умеренного когнитивного нарушения.

Предпочтительно расстройства, подлежащие лечению с помощью соединений формулы (I) или их фармацевтически приемлемой соли по настоящему изобретению, выбраны из шизофрении; обсессивно-компульсивного расстройства; генерализованного тревожного расстройства; болезни Хантингтона; дискинезии; болезни Паркинсона; депрессии; биполярных расстройств; деменции, такой как болезнь Альцгеймера; синдрома дефицита внимания/гиперактивности; наркотической зависимости; инсульта и аутизма.

Предпочтительно расстройства, подлежащие лечению с помощью соединений формулы (I) или их фармацевтически приемлемой соли по настоящему изобретению, представляют собой шизофрению, в том числе ее положительные и отрицательные симптомы, а также нарушения познавательных способностей, такие как ухудшение внимания или памяти.

Среди упомянутых выше расстройств особое значение имеет лечение тревожности, обсессивно-компульсивного расстройства, посттравматического стрессового расстройства; генерализованного тревожного расстройства, шизофрении, депрессии, синдрома дефицита внимания/гиперактивности, болезни Альцгеймера, деменции, обусловленной болезнью Хантингтона, деменции, обусловленной болезнью Паркинсона, деменции альцгеймеровского типа, персистирующей деменции, вызванной употреблением определенных веществ, и умеренного когнитивного нарушения.

Среди упомянутых выше расстройств особое значение имеет лечение тревожности, обсессивно-компульсивного расстройства, шизофрении, депрессии, синдрома дефицита внимания/гиперактивности и болезни Альцгеймера.

Другие расстройства центральной нервной системы включают тревожное расстройство, ассоциированное с шизофренией, и коморбидные депрессию и тревожность, в частности большое депрессивное расстройство с коморбидным генерализованным тревожным расстройством, социальным тревожным расстройством или паническим расстройством; при этом следует понимать, что коморбидные депрессия и тревожность также могут обозначаться терминами "депрессия, сопровождающаяся тревожностью", "смешанная тревожность и депрессия", "смешанное тревожное и депрессивное расстройство" или "большое депрессивное расстройство с симптомами тревожности", которые используются в данном документе без разграничения.

В настоящее время в четвертом издании Руководства по диагностике и статистике психических расстройств (DSM-IV) Американской психиатрической ассоциации представлен способ диагностики для идентификации расстройств, описанных в данном документе. Специалисту в данной области будет понятно, что для неврологических и психических расстройств, описанных в данном документе, существуют альтернативные системы номенклатуры, нозологические подходы и системы классификации, и что они видоизменяются вместе с прогрессом в области медицины и научным прогрессом. Например, в "American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition. Arlington, VA, American Psychiatric Association, 2013" (DSM-5™) используются такие термины, как депрессивные расстройства, в частности большое депрессивное расстройство, персистирующее депрессивное расстройство (дистимия), депрессивное расстройство, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; нейрокогнитивные расстройства (NCD) (как тяжелые, так и легкие), в частности нейрокогнитивные расстройства, обусловленные болезнью Альцгеймера, сосудистое NCD (такое как сосудистое NCD, проявляющееся в виде множественных инфарктов), NCD, обусловленное ВИЧ-инфекцией, NCD, обусловленное травматическим повреждением головного мозга (ТБИ), NCD, обусловленное болезнью Паркинсона, NCD, обусловленное болезнью Хантингтона, лобно-височное NCD, NCD, обусловленное прионной болезнью, и NCD, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; нарушения нервно-психического развития, в частности интеллектуальное нарушение, специфическое нарушение способности к обучению, нарушение нервно-психического развития двигательных функций, коммуникативное расстройство и синдром дефицита внимания и гипе-

рактивности (ADHD); расстройства, связанные с употреблением определенных веществ, и аддитивные расстройства, в частности расстройство, связанное с употреблением алкоголя, расстройство, связанное с употреблением амфетаминов, расстройство, связанное с употреблением марихуаны, расстройство, связанное с употреблением кокаина, расстройство, связанное с употреблением других галлюциногенных веществ, расстройство, связанное с употреблением табака, расстройство, связанное с употреблением опиоидов, и расстройство, связанное с употреблением фенциклидина; расстройства шизофренического спектра и другие психотические расстройства, в частности шизофрения, шизофреноформное расстройство, шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, психотическое расстройство, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; и циклотимическое расстройство (которое согласно DSM-5™ подпадает под категорию биполярных и родственных им расстройств). Такие термины могут применяться специалистом в данной области в качестве альтернативной номенклатуры для некоторых заболеваний или состояний, упоминаемых в данном документе. Дополнительное нарушение нервно-психического развития включает расстройство аутистического спектра (ASD), которое согласно DSM-5™ охватывает расстройства, ранее известные под терминами ранний детский аутизм, детский аутизм, аутизм Каннера, высокофункциональный аутизм, атипичный аутизм, pervasive расстройство развития без дополнительных уточнений, дезинтегративное расстройство детского возраста и синдром Аспергера.

Следовательно, настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению в лечении любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению для лечения или предупреждения, в частности лечения, любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения любого из вышеупомянутых в данном документе болезненных состояний.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения любого из вышеупомянутых в данном документе болезненных состояний.

Соединение 1 или его фармацевтически приемлемую соль по настоящему изобретению можно вводить млекопитающим, предпочтительно людям, для лечения или предупреждения любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Принимая во внимание полезность соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению, предусмотрен способ лечения вышеупомянутого в данном документе расстройства или заболевания, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 1, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Указанные способы предусматривают введение, т.е. системное или местное введение, предпочтительно пероральное введение терапевтически эффективного количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению теплокровным животным, в том числе людям.

Следовательно, настоящее изобретение также относится к способу предупреждения и/или лечения любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли согласно настоящему изобретению пациенту, нуждающемуся в этом.

Специалисту в данной области будет понятно, что терапевтически эффективным количеством ингибитора PDE2 по настоящему изобретению является количество, достаточное для ингибирования фермента PDE2, и что это количество варьирует, помимо прочего, в зависимости от типа заболевания, концентрации соединения в терапевтическом составе и состояния пациента. Обычно количество ингибитора PDE2, подлежащего введению в качестве терапевтического средства для лечения заболеваний, при которых ингибирование фермента PDE2 является целесообразным, таких как расстройства, описанные в данном документе, будет определяться в каждом конкретном случае лечащим врачом.

Подходящей дозой обычно является доза, которая дает в результате концентрацию ингибитора PDE2 в обрабатываемом участке в диапазоне от 0,5 нМ до 2 00 мкМ и в более типичном случае от 5 нМ до 50 мкМ. Для достижения этих лечебных концентраций пациенту, нуждающемуся в лечении, вероятно будут вводить от 0,001 до 15 мг/кг веса тела, в частности от 0,01 до 2,50 мг/кг веса тела, в частности от 0,01 до 1,5 мг/кг веса тела, в частности от 0,1 до 0,50 мг/кг веса тела. Количество соединения согласно настоящему изобретению, также называемого в данном документе активным ингредиентом, необходимое для достижения терапевтического эффекта, будет конечно же изменяться в каждом конкретном случае, изменяться в зависимости от конкретного соединения, пути введения, возраста и состояния пациента, получающего лечение, и конкретного расстройства или заболевания, подлежащего лечению. Способ

лечения может также предусматривать введение активного ингредиента согласно схеме от одного до четырех введений в сутки. В таких способах лечения соединения согласно настоящему изобретению предпочтительно составляют перед введением. Как описано в данном документе ниже, подходящие фармацевтические составы получают с помощью известных процедур с применением хорошо известных и общедоступных ингредиентов.

Фармацевтические композиции.

В настоящем изобретении также предусмотрены композиции для предупреждения или лечения заболеваний, при которых ингибирование PDE2 является целесообразным, таких как неврологические и психические расстройства. Указанные композиции содержат терапевтически эффективное количество соединения I и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Хотя активный ингредиент можно вводить отдельно, предпочтительно, чтобы он был представлен в виде фармацевтической композиции. Следовательно, в настоящем изобретении дополнительно предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно настоящему изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Носитель или разбавитель должны быть "приемлемыми" с точки зрения совместимости с другими ингредиентами композиции и не должны являться вредными для получающих их пациентов.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармацевтики. Терапевтически эффективное количество конкретного соединения в форме основания или в форме соли присоединения в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, который может принимать ряд форм в зависимости от формы препарата, необходимого для введения. Желательно, чтобы данные фармацевтические композиции находились в стандартной лекарственной форме, предпочтительно подходящей для системного введения, такого как пероральное, чрескожное или парентеральное введение; или для местного введения, как, например, с помощью ингаляции, назального спрея, глазных капель или с помощью крема, геля, шампуня и т.п. Например, при получении композиций в виде лекарственной формы для перорального введения можно использовать любые обычные фармацевтические среды, такие как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т.п., в случае жидких препаратов для перорального введения, таких как суспензии, сиропы, настойки и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т.п., в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее преимущественные стандартные лекарственные формы для перорального введения, в случае которых, несомненно, используют твердые фармацевтические носители. В случае композиций для парентерального введения носитель, как правило, по меньшей мере, в значительной степени будет содержать стерильную воду, хотя может включать и другие ингредиенты, например, для улучшения растворимости. Например, можно получать растворы для инъекций, в которых носитель содержит физиологический раствор, раствор глюкозы или смесь физиологического раствора и раствора глюкозы. Также можно получать суспензии для инъекций, в случае которых можно использовать соответствующие жидкие носители, суспендирующие средства и т.п. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель необязательно содержит средство, улучшающее проникновение, и/или подходящее смачивающее средство, необязательно в комбинации с подходящими добавками любой природы в минимальных пропорциях, при этом добавки не оказывают никаких существенных вредных воздействий на кожу. Указанные добавки могут облегчать введение через кожу и/или могут быть полезными при получении необходимых композиций. Данные композиции можно вводить различными путями, например посредством трансдермального пластыря, путем точечного нанесения или в виде мази.

Особенно преимущественно для простоты введения и однородности дозирования составлять вышеупомянутые фармацевтические композиции в виде стандартной лекарственной формы. Стандартные лекарственные формы в контексте данного описания и формулы изобретения относятся к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единиц дозирования, при этом каждая единица содержит заранее определенное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта, совместно с требуемым фармацевтическим носителем. Примерами таких стандартных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые таблетки или таблетки, покрытые оболочкой), капсулы, пилюли, пакеты с порошкообразным продуктом, пластинки, растворы или суспензии для инъекций, чайные ложки с верхом, столовые ложки с верхом и т.п., а также их отдельные кратные количества.

В зависимости от способа введения фармацевтическая композиция будет содержать от 0,05 до 99 вес.%, предпочтительно от 0,1 до 70 вес.%, более предпочтительно от 0,1 до 50 вес.% активного ингредиента и от 1 до 99,95 вес.%, предпочтительно от 30 до 99,9 вес.%, более предпочтительно от 50 до 99,9 вес.% фармацевтически приемлемого носителя, при этом все процентные содержания приводятся в пересчете на общий вес композиции.

Соединение по настоящему изобретению можно применять для системного введения, такого как пероральное, чрескожное или парентеральное введение; или для местного введения, как, например, с помощью ингаляции, назального спрея, глазных капель или с помощью крема, геля, шампуня или т.п.

Соединение предпочтительно вводят перорально.

Точная дозировка и частота введения зависят от соединения, конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, веса, пола, степени выраженности расстройства и общего физического состояния конкретного пациента, а также от другого медикаментозного лечения, которое индивидуум может получать, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что указанное эффективное суточное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединение по настоящему изобретению.

Количество соединения 1, которое можно объединять с материалом носителя для получения лекарственной формы с однократной дозировкой, будет варьировать в зависимости от заболевания, подвергаемого лечению, вида млекопитающего и конкретного способа введения. Однако в качестве общего руководства подходящие стандартные дозы соединения по настоящему изобретению могут, например, предпочтительно содержать от 0,1 до приблизительно 1000 мг активного соединения. Предпочтительная стандартная доза составляет от 1 до приблизительно 500 мг. Более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 до приблизительно 300 мг. Еще более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 до приблизительно 100 мг. Такие стандартные дозы можно вводить более одного раза в сутки, например 2, 3, 4, 5 или 6 раз в сутки, но предпочтительно 1 или 2 раза в сутки, с тем, чтобы общая дозировка для взрослого человека весом 70 кг находилась в диапазоне от 0,001 до приблизительно 15 мг на кг веса субъекта в расчете на одно введение. Предпочтительная доза составляет от 0,01 до приблизительно 1,5 мг на кг веса субъекта в расчете на одно введение, и такая терапия может продолжаться в течение нескольких недель или месяцев, а в некоторых случаях в течение нескольких лет. Однако следует понимать, что определенный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от ряда факторов, в том числе активности определенного используемого соединения; возраста, веса тела, общего состояния здоровья, пола и режима питания индивидуума, подлежащего лечению; времени и пути введения; скорости выведения; других лекарственных средств, которые были введены ранее; и тяжести конкретного заболевания, подвергаемого терапии, что хорошо понятно специалистам в данной области.

Типичная дозировка может представлять собой одну таблетку с дозой от 1 до приблизительно 100 мг или от 1 до приблизительно 300 мг, принимаемую один раз в сутки или несколько раз в сутки, или одну капсулу или таблетку с замедленным высвобождением, принимаемую один раз в сутки и характеризующуюся пропорционально более высоким содержанием активного ингредиента. Эффекта медленно высвобождения можно достигать с помощью материалов капсулы, которые растворяются при различных значениях pH, с помощью капсул с медленным высвобождением при осмотическом давлении или с помощью любых других известных средств, обеспечивающих контролируемое высвобождение.

В некоторых случаях может понадобиться применение дозировок вне этих диапазонов, что будет очевидно специалистам в данной области. Кроме того, следует отметить, что клиницист или лечащий врач будет знать, как и когда начинать, прерывать, корректировать или завершать терапию в соответствии с реакцией отдельного пациента.

В отношении композиций, способов и наборов, приведенных выше, специалисту в данной области будет понятно, что предпочтительным соединением для применения в каждом из них является соединение, указанное в данном документе.

Экспериментальная часть.

Используемый в данном документе термин "ACN" означает ацетонитрил, "AcOH" означает уксусную кислоту, "DMAP" означает 4-диметиламинопиридин, "DSC" означает дифференциальную сканирующую калориметрию, "LCMS" означает жидкостную хроматографию/масс-спектрометрию, "HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию, "RP HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию с обращенной фазой, "водн." означает водный, "DCM" означает дихлорметан, "DIPE" означает диизопропиловый эфир, "DIPEA" означает диизопропилэтиламин, "DMF" означает N,N-диметилформамид, "EtOH" означает этанол, "Et₂O" означает диэтиловый эфир, "EtOAc" означает этилацетат, "Et₃N" означает триэтиламин, "HBTU" означает O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат, "THF" означает тетрагидрофуран, "мин" означает минуты, "ч" означает часы, "MeOH" означает метанол, "iPrOH" означает 2-пропанол, "реак. см." означает реакционную смесь, "RT" означает комнатную температуру, "орг. сл." означает органический слой, "R_t" означает время удержания (в минутах), "колич." означает количественный, "насыщ." означает насыщенный, "раств." означает раствор, "т. пл." означает температуру плавления, "q.s." означает в достаточном количестве.

Тонкослойную хроматографию (TLC) проводили на пластинах со слоем силикагеля 60 F254 (Merck) с применением растворителей с высокой степенью чистоты. Хроматографию на открытых колонках проводили на силикагеле с размером частиц 230-400 меш и размером пор 60 Å (Merck) в соответствии со стандартными методиками. Автоматизированную колоночную флэш-хроматографию проводили с применением готовых к подключению картриджей от Merck на силикагеле с частицами неправильной формы с размером частиц 15-40 мкм (одноразовые колонки для нормально-фазовой флэш-хроматографии) в системе SPOT или LAFLASH от Armen Instrument.

Абсолютную стереохимическую конфигурацию для некоторых соединений определяли с помощью

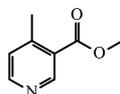
колебательного кругового дихроизма (VCD). Их измеряли на Bruker Equinox 55, оснащенном PMA 37, в жидкостной кювете с окном из KBr с применением CD_2Cl_2 в качестве растворителя (PEM: 1350 см^{-1} , LIA: 1 мВ , разрешение: 4 см^{-1}). Описание применения VCD для определения абсолютной конфигурации можно найти в Dyatkin A.B. et. al., Chirality, 14:215-219 (2002).

Расчеты ab initio: тщательный поиск в отношении конформации выполняли на уровне молекулярной механики с применением MacroModel для осуществления отбора образцов при смешанном торсионном/низкочастотном режиме с силовым полем OPLS-2005. Локализованные минимумы оптимизировали с применением Jaguar на уровне B3LYP/6-31G** в рамках континуальной модели сольватации Пуассона-Больцмана для имитации растворителя дихлорметана. Все конформации внутри интервала 10 кДж/моль применяли для моделирования спектра VCD и IR-спектра. Дипольные силы и силы вращения рассчитывали на том же уровне B3LYP/6-31G** с применением Jaguar. Рассчитанные спектры VCD, полученные после масштабирования частот в 0,97 раз, с преобразованием Лоренца в форму полос и суммированием вклада каждого конформера, учитывая ансамбль Больцмана, визуально сравнивали с экспериментальными спектрами для определения точной стереохимии.

Следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не для ограничения объема настоящего изобретения. Если не указано иное, то все исходные вещества получали от коммерческих поставщиков и применяли без дополнительной очистки.

А. Синтез промежуточных соединений.

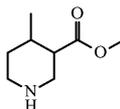
Промежуточное соединение 1



Процедура а. Гидрохлорид 4-метил-3-пиридинкарбоновой кислоты (1:1) (40 г, 230,4 ммоль) добавляли в нагреваемую с обратным холодильником смесь серной кислоты (20 мл) и MeOH (400 мл). Смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи, затем ее выпаривали и полученную взвесь добавляли в холодный раствор NaHCO_3 (64 г) в воде (360 мл). Продукт экстрагировали с помощью DCM и органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 1 (28,70 г, 83%).

Процедура б. В металлический реактор загружали 3-бром-4-метилпиридин (200 г, 0,116 моль) и смесь DMF/MeOH (1/1 л). К данной смеси добавляли Et_3N (400 г, 0,395 моль), ацетат палладия (II) (8 г, 0,036 моль) и 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен (16 г, 0,029 моль). Реактор закрывали и подавали газ CO (3 МПа) и реакционную смесь перемешивали и нагревали в течение ночи при 140°C . Реак. см. охлаждали, фильтровали и концентрировали in vacuo. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (градиент элюента: EtOAc/петролейный эфир от 1/1 до 1/0). Фракции, содержащие продукт, собирали и растворитель выпаривали с получением требуемого промежуточного соединения 1 (90 г, 51%).

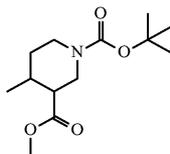
Промежуточное соединение 2



Процедура а. В колбу для гидрирования загружали AcOH (500 мл) и затем добавляли PtO_2 (15,02 г, 66,2 ммоль). Добавляли промежуточное соединение 1 (50 г, 330,8 ммоль) и смесь гидрировали при 50°C в течение 7 дней. Реакц. см. фильтровали через dicalite® и фильтрат выпаривали с получением промежуточного соединения 2 (52 г), которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Процедура б. К раствору промежуточного соединения 1 (90 г, 0,595 моль) и AcOH (1 л) добавляли оксид платины (5 г, 0,022 моль). Реакц. см. перемешивали и гидрировали в течение 5 дней при 50°C при давлении 3,5 кПа. Охлажденную реакц. см. концентрировали in vacuo с получением промежуточного соединения 2 в виде соли уксусной кислоты (140 г, 97%, 90% чистота, определенная с помощью $^1\text{H-NMR}$).

Промежуточное соединение 3

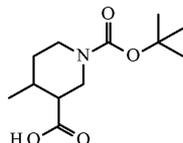


Процедура а. К раствору промежуточного соединения 2 (52 г, 330,8 ммоль) в DCM (869 мл) добавляли DIPEA (85,5 г, 661,5 ммоль) и DMAP (4,04 г, 33,08 ммоль). Затем к этому раствору маленькими частями добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (72,19 г, 330,8 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при RT в течение 1 ч. Реакц. см. промывали водой и солевым раствором и органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (си-

ликагель, элюент: DCM, 1% MeOH в DCM, 2%, 4%). Требуемые фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 3 (64,1 г, 75%).

Процедура b. К перемешанному и охлажденному (0°C) раствору промежуточного соединения 2 (140 г, 0,595 моль) в DCM (1,5 л) последовательно добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (130 г, 0,596 моль), Et₃N (225 г, 1,74 моль) и DMAP (10 г, 0,082 моль) и перемешивание продолжали при RT в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в H₂O (500 мл) и экстрагировали с помощью DCM (2×100 мл). Органические слои отделяли, высушивали (Na₂SO₄) и растворитель выпаривали с получением неочищенного промежуточного соединения 3 (150 г, 90%, 90% чистота, определенная с помощью ¹H-ЯМР), которое применяли как таковое на следующей стадии.

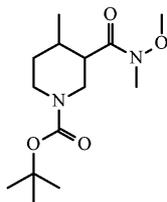
Промежуточное соединение 4



Процедура a. Промежуточное соединение 3 (64,1 г, 249,1 ммоль) перемешивали в MeOH (500 мл) при RT. Добавляли NaOH (2 М, 747,3 мл) и смесь перемешивали в течение 2 ч. при RT. Реакц. см. подкисляли 1 н. HCl и продукт экстрагировали с помощью Et₂O. Орг. сл. промывали солевым раствором и высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 4 (59,70 г) в виде белого твердого вещества.

Процедура b. К перемешанному раствору промежуточного соединения 3 (150 г, 90% чистота, 0,524 моль) в MeOH (0,9 л) добавляли 2 М раствор NaOH (1,8 моль). Через 14 ч при RT реакц. см. экстрагировали с помощью MTBE (2×0,8 л). Водный слой подкисляли 10%-ной лимонной кислотой и затем экстрагировали с помощью EtOAc (4×1 л). Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали in vacuo с получением неочищенного промежуточного соединения 4 (142 г, 90% чистота, определенная с помощью ¹H-ЯМР, 100%), которое применяли как таковое на следующей стадии.

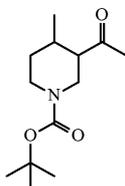
Промежуточное соединение 5



Процедура a. К раствору промежуточного соединения 4 (59,7 г, 0,25 моль) в THF (800 мл) добавляли ди-1H-имидазол-1-илметанол (54 г, 0,33 моль) и смесь перемешивали при RT в течение 1 ч. В другой колбе к суспензии N-метоксиметанамина гидрохлорида (1:1) (32,93 г, 0,34 моль) в ACN (500 мл) добавляли триметиламин (35,75 г, 0,35 моль). Обе смеси объединяли и перемешивали при 50°C, осуществляя при этом контроль. Промежуточный продукт кристаллизовали из реакц. см., и он не вступал в реакцию с N-метоксиметаном для образования требуемого продукта. Добавляли DCM до тех пор, пока промежуточное соединение не растворится. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 1 недели при 80°C. Выпаривали растворители. Остаток растворяли в DCM и промывали водой, 20%-м раствором AcOH и наконец насыщенным раствором NaHCO₃. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: 2% MeOH в DCM, 4%). Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 5 (70 г, количественно).

Процедура b. К перемешанному и охлажденному льдом раствору промежуточного соединения 4 (140 г, 0,518 моль) в DCM (2 л) добавляли N,O-диметилгидроксиламин (113 г, 1,16 моль) и Et₃N (113 г, 1,79 моль). Затем добавляли NATU (235 г, 0,618 моль) и перемешивание продолжали в течение 14 ч. Растворитель выпаривали и добавляли раствор NaHCO₃ (0,5 л) и затем экстрагировали с помощью DCM (3×1 л). Объединенные органические слои отделяли, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали in vacuo. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 1-10% EtOAc в петролейном эфире с получением промежуточного соединения 5 (152 г, 100%).

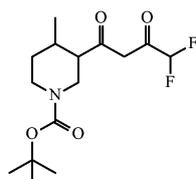
Промежуточное соединение 6



Процедура а. Промежуточное соединение 5 (70 г, 244,4 ммоль) в THF (2 50 мл) загружали в колбу в атмосфере N₂ и охлаждали до -15°C. По каплям добавляли бромид метилмагния (1,4 М в толуоле/THF 75/25, 206 мл) при температуре, не превышающей 0°C. После добавления реакц. см. перемешивали при RT в течение 1 ч. Затем реакц. см. выливали на лед с 20 мл AcOH. Продукт экстрагировали с помощью Et₂O и органический слой промывали с помощью 5%-го раствора NaHCO₃. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 6 (53,35 г, 90%).

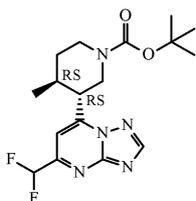
Процедура б. К перемешанному и охлажденному раствору (0°C) промежуточного соединения 5 (150 г, 0,524 моль) в THF (2 л) по каплям добавляли 3 М раствор бромида метилмагния в THF (0,75 л, 2,25 моль) и перемешивание продолжали при RT в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в водный раствор NH₄Cl и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с элюированием с помощью 1-5% EtOAc в петролейном эфире с получением промежуточного соединения 6 (120 г, 95%).

Промежуточное соединение 7



Промежуточное соединение 6 (53,35 г, 0,22 моль) перемешивали в толуоле (1500 мл) при 0°C в атмосфере N₂. Добавляли трет-бутоксид калия (34,14 г) при 0-5°C, по каплям добавляли сложный этиловый эфир 2,2-дифторуксусной кислоты (33,01 г, 0,27 моль) при 0-5°C. Реакц. см. перемешивали при RT в течение 2 ч., затем промывали с помощью 10% H₂SO₄ в воде и органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 7 (70,50 г, количественно).

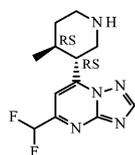
Промежуточное соединение 8



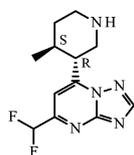
Промежуточное соединение 7 (70,5 г, 220,8 ммоль), 1H-1,2, 4-триазол-5-амин гидрохлорид (1:1) (53,22 г, 441,52 ммоль) и DMF (1500 мл) перемешивали при 80°C в течение 24 ч. Добавляли Et₃N (20 г) и ди-трет-бутилдикарбонат (20 г). Смесь перемешивали в течение 30 мин, выпаривали и затем растворяли в EtOAc, промывали водой и солевым раствором. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Наблюдали четыре изомера. Первую фракцию кристаллизовали из Et₂O. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 8 (24,60 г, 30%). Из маточного раствора получали вторую фракцию соединения. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 8 (2,53 г, 3%).

Примечание: "RS" означает, что промежуточное соединение представляет собой рацемическую смесь двух энантиомеров с относительной трансконфигурацией.

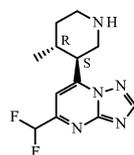
Промежуточные соединения 9, 9a и 9b



Промежуточное
соединение 9



Промежуточное
соединение 9a



Промежуточное
соединение 9b

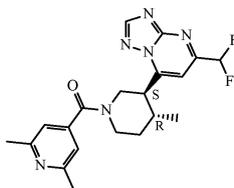
К раствору промежуточного соединения 8 (24,6 г, 67 ммоль) в MeOH (350 мл) добавляли HCl-iPrOH (350 мл) и реакц. см. перемешивали в течение 2 ч. при RT. Реакц. см. выпаривали и продукт кристаллизовали из EtOH. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением 20,33 г неочищенного вещества, к которому добавляли воду, Na₂CO₃ и DCM. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением 12,80 г промежуточного соединения 9. Это свободное основание разделяли на энантиомеры 9a и 9b путем очистки с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 30x250 мм; подвижная фаза: CO₂, ((MeOH - iPrOH 50/50) с 0,4% iPrNH₂) с получением промежуточного соединения 9a (5 г, 19%, R_t=7,57 мин) и промежуточного соединения 9b (5,13 г, 19%, R_t=9,36 мин).

Промежуточные соединения 9a и 9b выделяли в виде свободных оснований или, альтернативно, их растворяли в MeOH с последующим добавлением HCl/i-PrOH и смесь выпаривали. Хлористоводородные

соли (в каждом случае HCl) кристаллизовали из ACN, отфильтровывали и высушивали.

В. Синтез конечного соединения.

Соединение 1



2,6-Диметилпиридин-4-карбоновую кислоту (1,84 г, 12,2 ммоль) перемешивали в DCM (100 мл), добавляли DIPEA (6,31 г, 48,8 ммоль) и HBTU (4,63 г, 12,2 ммоль), перемешивание продолжали в течение 0,5 ч при RT. К раствору добавляли промежуточное соединение 9b (3,26 г, 12,2 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 5 ч при RT. Добавляли 1 н. раствор NaOH и перемешивали в течение 5 мин. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: 1% MeOH в DCM, 2%, 4%). Очищенные фракции выпаривали и продукт кристаллизовали из DIPE, отфильтровывали и высушивали с получением соединения 1 (3,85 г, 79%).

Отдельную партию соединения кристаллизовали в виде соли HCl из Et₂O с получением соединения 1 в виде хлористоводородной соли (.2 HCl) (выход: 175 мг, 70%, начиная со 175 мг промежуточного соединения 9b HCl).

Стереохимическую конфигурацию соединения 1 подтверждали с помощью колебательного кругового дихроизма (VCD).

Аналитическая часть.

Значения температуры плавления.

Значения представляют собой либо максимальные значения, либо диапазоны значений температуры плавления, и их получают с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с данным аналитическим способом.

DSC823e (обозначен как DSC).

Температуру плавления определяли с помощью DSC823e (Mettler-Toledo). Температуру плавления измеряли при температурном градиенте 10°C/мин. Максимальная температура составляла 300°C.

Таблица 1

№ соед.	Т. пл.
1	149,31

Угол оптического вращения.

Угол оптического вращения измеряли на поляриметре Perkin-Elmer 341 с натриевой лампой и обозначали следующим образом: $[\alpha]^\circ (\lambda, c \text{ в г/100 мл, растворитель, T в } ^\circ\text{C})$.

$[\alpha]_\lambda^T = (100\alpha)/(l \times c)$, где l означает длину пробега в дм, а c означает концентрацию в г/100 мл для образца при температуре T (°C) и длине волны λ (в нм). Если используемая длина волны света составляет 589 нм (D - линия натрия), то вместо нее может применяться символ D. Всегда должен приводиться знак направления вращения (+ или -). При применении данного уравнения концентрация и растворитель всегда приводятся в круглых скобках после угла вращения. Угол вращения указан в градусах, а единицы концентрации не приведены (считается, что они представлены в г/100 мл).

Таблица 2

№ соед.	Угол опт. вращ.
1	+28,91° (589 нм, с 0,2975 вес/об. %, DMF, 20°C)

Способы SFC-MS.

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы сверхкритической жидкостной хроматографии, укомплектованной насосом для двухкомпонентных смесей для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенный проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающей значения не более 400 бар. При оснащении масс-спектрометром (MS) поток из колонки направлялся в (MS). В компетенции специалиста в данной области находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т.п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор и обработку данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Таблица 3а

Аналитические способы SFC-MS (расход выражен в мл/мин;
температура колонки (Т) в °С; время анализа в минутах,
противодавление (BPR) в барах)

Код способа	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток ----- Т колонки	Время анализа ----- BPR
1	Колонка Daicel (AD, OD, OJ, AS, ID) -H -H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: 5 разных растворителей, используемых для В: MeOH, EtOH, iPrOH, MeOH-iPrOH (50-50) и EtOH-iPrOH (50-50)	10%-55% В за 4 мин., 55-50% за 0,45 мин., удерживание 2,55 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110

Таблица 3б

Аналитические данные SFC - R_t означает время удерживания (в минутах), [M+H]⁺ означает массу протонированного соединения, способ относится к способу, применяемому для анализа энантимерно чистых соединений с помощью (SFC)MS

№ соед.	R _t	[M+H] ⁺	Способ	Порядок элюирования изомеров
1	2,93	401	1	Только один энантиомер

Способы LC/MS.

Измерения в ходе осуществления высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) проводили с помощью насоса для LC, детектора на диодной матрице (DAD) или УФ-детектора и колонки, как описано в соответствующих способах. При необходимости включали дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (МС), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т.п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор и обработку данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали с помощью их значений экспериментального времени удерживания (R_t) и ионов. Если не указано иное, то в таблице данных указанный молекулярный ион соответствует [M+H]⁺ (протонированная молекула) и/или [M-H]⁻ (депротонированная молекула). В случае, если соединение не было напрямую способно к ионизации, указывают тип аддукта (т.е. [M+NH₄]⁺, [M+HCOO]⁻ и т.д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl) сообщаемое значение является значением, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно ассоциированы с применяемым способом.

Далее в данном документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "MSD" означает масс-селективный детектор, "RT" означает комнатную температуру, "ВЕН" означает мостиковый гибрид этилсилексана/диоксида кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности.

Таблица 4а
Коды способов LCMS (поток выражен в мл/мин; температура колонки (Т) в °С;
время анализа в минутах)

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток Т колонки	Время анализа (мин.)
Способ А	Waters: Acquity® UPLC® - DAD/SQD	Waters: VEN C18 (1,7 мкм, 2,1*50 мм)	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин, удержива ние в течение 0,7 мин.	0,8 мл/мин. 55°С.	2

Таблица 4б
Данные анализа LCMS - R_t означает время удерживания (в минутах), [M+H]⁺
означает массу протонированного соединения, способ относится к способу,
применяемому для анализа (LC)MS

№ соед.	R _t	[M+H] ⁺	[M+H] ⁺	Способ
1	0,76	401,2	399,2	Способ А

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР).

Спектр ¹H ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker DPX-400 со стандартными последовательностями импульсов, работающем при 400 МГц. Химические сдвиги (δ) регистрировали в частях на миллион.

Соед. № 1: ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, 120°С) δ ppm 0,81 (d, J=6,6 Гц, 3H), 1,43 (qd, J=12,4, 4,4 Гц, 1H), 1,89 (br dq, J=13,4, 3,1 Гц, 1H), 2,44 (s, 6H), 2,49-2,53 (m, 1H), 3,11 (t, J=12,7 Гц, 1H), 3,35 (dd, J=12,9, 11,1 Гц, 1H), 3,57 (td, J=10,8, 4,1 Гц, 1H), 4,00-4,27 (m, 2H), 6,98 (t, J=54,2 Гц, 1H), 7,00 (s, 2H), 7,53 (s, 1H), 8,68 (s, 1H).

Фармакологические примеры.

Соединение, предусмотренное в настоящем изобретении, представляет собой ингибитор PDE2, в частности PDE2A. Результаты тестирования соединения 1 в нескольких фармакологических анализах показаны ниже.

Анализ PDE2A in vitro.

Человеческую рекомбинантную PDE2A (hPDE2A) экспрессировали в клетках Sf9 с применением рекомбинантной конструкции gPDE10A на основе бакуловируса. Клетки собирали через 48 ч после инфицирования и белок hPDE2A очищали с помощью металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе 6FF. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Разведения соединения (0,4 мкл) добавляли в 384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мМ Tris, pH 7,8, 8,3 мМ MgCl₂, 1,7 мМ EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл фермента hPDE2A и реакцию начинали путем добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 10 мкМ cGMP и 0,01 мкКи ³H-cGMP. Реакционную смесь инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл, дополненных 200 мМ ZnCl₂. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения вычерчивали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀).

Анализ PDE3A in vitro.

Человеческую рекомбинантную PDE3A (hPDE3A) приобретали в виде частично очищенного лизата клеток насекомых от Scottish Biomedical, ее клонировали из головного мозга человека и экспрессировали в клетках Sf9. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Разведения соединения (0,4 мкл) добавляли в

384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мМ Tris, pH 7,8, 8,3 мМ MgCl₂, 1,7 мМ EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл hPDE3A и реакцию начинали путем добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 0,4 мкМ сАМР и 2,4 мкКи/мл [³H]-сАМР. Реакционную смесь инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл, дополненных 200 мМ ZnCl₂. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount, и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения вычерчивали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀).

Анализ PDE10A in vitro.

Крысиную рекомбинантную PDE10A (rPDE10A2) экспрессировали в клетках Sf9 с применением рекомбинантной конструкции rPDE10A на основе бакуловируса. Клетки собирали через 48 ч после инфицирования и белок rPDE10A очищали с помощью металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе 6FF. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Разведения соединения (0,4 мкл) добавляли в 384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мМ Tris, pH 7,8, 8,3 мМ MgCl₂, 1,7 мМ EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл фермента rPDE10A и реакцию начинали путем добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 60 нМ сАМР и 0,008 мкКи ³H-сАМР. Реакционную смесь инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount, и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения вычерчивали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀).

Таблица 5а

Соединение	IC ₅₀ PDE2A (нМ)
1	0,95
1. 2HCl	0,7

Таблица 5б

Соединение	pIC ₅₀ соответствует -log IC ₅₀ , выраженному в моль/л		
	pIC ₅₀ (PDE2A)	pIC ₅₀ PDE3B	pIC ₅₀ PDE10A2
1	9,07	5,21	7,06
1. 2HCl	9,11	5,15	6,93

Выявление фосфорилирования GLUR1 с помощью вестерн-блоттинга.

PDE2 в основном экспрессируется в гиппокампе, коре головного мозга и полосатом теле и способен гидролизовать сАМР и сGMP. Миграцию AMPA-R можно регулировать с помощью активации PKA (посредством сАМР) или сGKII (посредством сGMP). Было показано, что фосфорилирование субъединицы Glu1 в AMPA-R имеет особо важное значение в отношении экспрессии LTD (снижение) и LTP (повышение) и сохранения воспоминаний.

Способы.

Соединение 1 (растворенное в 10% CD+1 HCl) вводили р.о. (перорально) крысам Спраг-Дуули (180-200 г; 10 и 40 мг/кг) и через 2 ч животных умерщвляли путем декапитации. Гиппокамп препарировали и ткань подвергали быстрой заморозке и хранили при -80°C.

После размораживания осуществляли лизис ткани в реагенте для экстракции ткани, дополненном 5 мМ EDTA и смесью ингибиторов протеаз и фосфатаз. Образцы, содержащие белок, денатурировали с помощью буфера для образца LDS и восстанавливающего средства (Life Technologies, Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, США) и наконец загружали 50 мкг белка и подвергали электрофорезу с применением 10% полиакриламидного геля с Bis-Tris (Bio-Rad, Геркулес, Калифорния, США) при 90-160 В. Затем белки с гелей переносили посредством электроблоттинга на нитроцеллюлозную мембрану Trans blot turbo с размером пор 0,2 мкм (Bio-Rad) с применением системы для переноса Trans-blot Turbo (Bio-Rad). Мембраны блокировали в течение 1 ч при RT в забуференном Tris солевом растворе с Tween-20 (TBS-T:

10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 150 mM NaCl, 0,05% Tween-20), содержащем 5% обезжиренное сухое молоко (Santa Cruz Biotechnology, Даллас, Техас, США), и инкубировали с первичным антителом в течение ночи при 4°C с обеспечением легкого встряхивания (антитело к общему Glu1 31232 от Abcam, антитело к Ser845 pGlu1 76321 от Abcam, оба в разведении 1/1000). Блоты промывали пять раз буфером TBS-T и инкубировали со вторичным антителом в течение 1 ч при RT (вторичное антитело осли к антителу кролика, конъюгированное с HRP, разведение 1/1000). Иммуноокрашивание выявляли после промывания буфером TBST с помощью субстрата SuperSignal с максимальной чувствительностью для выявления на фемтоуровне с помощью вестерн-блоттинга (Thermo scientific, Крамлингтон, Великобритания). Сигналы записывали и количественно оценивали по хемилюминесценции (G-box Syngene, Syngene, Крамлингтон, Великобритания).

Результаты этого теста показаны на фиг. 1.

Занятость PDE2 соединением 1.

Способы.

Занятость PDE2A оценивали с помощью автордиографии ex-vivo с применением [³H]В-17а (описан в WO 2013/000924) в качестве радиолиганда (соединение 12 в Buijnsters et al. (2014). Structure-Based Design of a Potent, Selective and Brain Penetrating PDE2 Inhibitor with Demonstrated Target Engagement. ACS Med Chem Lett. 5(9):1049-53).

Самцов крыс Wistar (200-250 г) обрабатывали путем перорального введения среды-носителя или возрастающих доз [³H]В-17а и умерщвляли через один час. Головной мозг сразу же удаляли из черепа и подвергали быстрой заморозке в охлажденном сухим льдом 2-метилбутане (-40°C). Срезы полосатого тела толщиной 20 мкм нарезали с помощью криостатного микротомы Leica CM 3050 (van Hopplynus, Бельгия), помещали в размороженном состоянии на предметные стекла (SuperFrost Plus Slides, LaboNord, Франция) и хранили при -20°C до применения.

После размораживания срезы высушивали в холодном потоке воздуха и инкубировали в течение одной минуты с 30 nM [³H]В-17а в Tris-HCl (50 mM, pH 7,4), содержащем 0,3% BSA. Срезы головного мозга от обработанных лекарственным средством и обработанных средой-носителем животных инкубировали одновременно. Неспецифическое связывание измеряли на срезах мозжечка, области головного мозга, которая не содержит фермента PDE2A. После инкубации избыток [³H]В-17а смывали ледяным буфером 2 раза по 10 мин с последующим быстрым погружением в дистиллированную воду. Затем срезы высушивали в потоке холодного воздуха.

Срезы головного мозга помещали в β -imager (Biospace, Париж) на 4 ч и радиоактивность, исходящую от срезаемых областей головного мозга, количественно оценивали с применением программы Beta vision (Biospace, Париж). Специфическое связывание определяли как разницу между общим связыванием в полосатом теле и неспецифическим связыванием в мозжечке. Процент занятости рецептора лекарственным средством, которое вводили животному, соответствовал 100% минус процент меченого рецептора у обработанного животного. Для определения значений ED₅₀ значения процента занятости рецептора наносили на график в зависимости от дозы и уравнение наиболее соответствующей сигмоидальной логарифмической кривой доза-эффект рассчитывали с помощью нелинейного регрессионного анализа с применением программы Prism от GraphPad. Значения ED₅₀ (доза лекарственного средства, обеспечивающая 50% занятость рецептора) при доверительных интервалах с надежностью 95% рассчитывали на основании кривых доза-ответ.

Результаты этого теста показаны на фиг. 2.

Эффект соединения 1 в отношении синаптической передачи.

Важные реагенты.

Сахарозный буфер для препарирования, содержащий (в mM) сахарозу (150), NaCl (40), KCl (4), NaH₂PO₄·H₂O (0,3), MgCl₂·6H₂O (7), NaHCO₃ (26), CaCl₂·2H₂O (0,5), D-глюкозу (10), уравновешенный газовой смесью 95% O₂ и 5% CO₂. Искусственная цереброспинальная жидкость (ACSF), применяемая в ходе уравновешивания и регистрации, содержала (в mM): NaCl (124), KCl (2,7), NaH₂PO₄·H₂O (1,25), MgSO₄·7H₂O (1,3), NaHCO₃ (26), CaCl₂·2H₂O (2), D-глюкозу (10), аскорбиновую кислоту (2), уравновешенные газовой смесью 95% O₂ и 5% CO₂. ACSF получали с CNQX и кинуреновой кислотой в концентрации 50 мкМ и 1 мМ соответственно. Соединение 1 получали непосредственно перед применением из исходного раствора (с DMSO) в ACSF и с конечной концентрацией DMSO, которая не превышала 0,1%. Все реагенты были от Sigma-Aldrich, если не указано иное.

Животные (вид, вес и пол).

Используемыми животными были самцы крыс Спраг-Доули с весом в диапазоне 145-200 г, приобретенные у Charles River, Германия.

Получение срезов гиппокампа.

Горизонтальные срезы головного мозга (300 мкм) получали из средней-вентральной части гиппокампа самцов крыс Спраг-Доули, которых анестезировали изофлураном согласно стандартному протоколу. Срезы нарезали с помощью вибрационного микротомы для тканей (Leica VT1200S) в холодном (4°C) сахарозном буфере для препарирования со скоростью 0,1 мм/с. После нарезания срезы оставляли для

уравновешивания при 35°C в течение 20 мин, а затем обеспечивали восстановление при RT в течение по меньшей мере одного часа в искусственной цереброспинальной жидкости (ACSF). Из одного головного мозга получали от трех до четырех срезов.

Система тестирования.

Все данные регистрировали с помощью установки MEA, коммерчески доступной от Multichannel Systems MCS GmbH (Ройтлинген, Германия), состоящей из 4-канального генератора импульсов и 60-канального основного модуля с усилителем, присоединенного к 60-канальной плате A/D. Программное обеспечение для стимуляции, регистрации данных и анализа представляло собой коммерчески доступное от Multi Channel Systems: MC Stim (II версия 2.0.0) и MC Rack (версия 3.8.1.0) соответственно. Все эксперименты проводили с применением 3-мерной MEA (Ayuda Biosystems, S.A., CH-1015, Лозанна, Швейцария), которая состояла из 60 электродов с заостренной формой и высотой 60 мкм, расстояние между которыми составляло 100 мкм. Electroды MEA изготовлены из платины с сопротивлением в диапазоне 600-900 кОм.

План эксперимента.

Эффект соединения 1 в отношении синаптической передачи исследовали путем регистрации внеклеточных полевых потенциалов в срезах гиппокампа. Хорошо известно, что синаптическая передача может обеспечивать отклонение внеклеточного полевого потенциала, что отражает синхронную синаптическую активность в популяции нейронов, окружающих регистрирующий электрод.

Регистрация данных внеклеточного полевого потенциала.

После восстановления срезы головного мозга помещали на чип MEA под микроскопом и размещали 60 регистрирующих электродов в области синапса мшистых волокон (зубчатая извилина - CA3) гиппокампа. Растворы ACSF непрерывно перфузировали со скоростью потока 2 мл/мин. Температуру в камере MEA поддерживали на уровне $32 \pm 0,1^\circ\text{C}$, при этом элемент Пельтье был расположен на основном модуле с усилителем MEA. Все данные регистрировали с помощью установки MEA, коммерчески доступной от Multichannel Systems MCS GmbH (Ройтлинген, Германия). Два соседних электрода в чипе выбирали для стимуляции мшистых волокон в области хилуса зубчатой извилины и fEPSP регистрировали в терминальной зоне области CA3 гиппокампа. Полевые внеклеточные постсинаптические потенциалы (fEPSP) вызывали путем стимуляции входа мшистых волокон с помощью двух последовательных электрических импульсов с интервалом 30 мс и повторяли каждые 60 с (длительность импульса составляла 100 мкс, и сила стимулирующего тока (мкА) составляла 4 0% относительно максимальной амплитуды). Контрольные эксперименты проводили одновременно со срезами, которые произвольным образом относили к обрабатываемым с помощью среды-носителя (DMSO). N обозначает число срезов, и, как правило, 3-4 среза использовали из расчета на каждое животное. Вызванные ответы на уровне постсинаптических нейронов (fEPSP) регистрировали, если они удовлетворяли определенным критериям качества, в том числе правильное расположение, стабильный фон (отклонение в пределах $\pm 10\%$ в течение десяти последовательных минут, амплитуда > 100 мкВ). Данные fEPSP от выбранных электродов собирали при 5 кГц и записывали на жесткий диск ПК для осуществления анализа в режиме офлайн. Одновременно значения амплитуды fEPSP от выбранных электродов собирали в режиме реального времени (с помощью программы MC Rack) для контроля и отслеживания качества эксперимента. Данные наносили на график в файле электронной таблицы для осуществления анализа в режиме офлайн.

Слабую долговременную потенциацию (LTP) вызывали с помощью однократного высокочастотного импульса (HFS) с обеспечением меньшей, чем максимальная потенциация fEPSP.

Результаты этого теста показаны на фиг. 3 и 4, что касается эффекта соединения 1 в отношении базальной синаптической передачи, и на фиг. 5, что касается эффекта соединения 1 в отношении содействия индукции LTP с помощью протокола слабой долговременной потенциации. Интересно отметить, что аналогичные результаты получали с другими ингибиторами PDE2, как, например, 4-(1-азетидинил)-7-метил-5-[1-метил-5-[5-(трифторметил)-2-пиридинил]-1H-пиразол-4-ил]имидазо[5,1-f][1,2,4]триазином [CAS 1394033-54-5] (WO 2012114222, Pfizer) (см. фиг. 6).

Исследование PK/PD однократной дозы PDE2i на собаках.

В этих исследованиях использовали самок и самцов собак породы Marshall Beagle (1-6 лет): 2 самца и 2 самки из расчета на каждую группу обработки. Цереброспинальную жидкость (CSF) отбирали с помощью канюли с направляющей иглой из бокового желудочка головного мозга находящихся в сознании животных, подключенных к аппарату.

Образцы CSF и крови на исходном уровне отбирали за 2-5 дней перед введением дозы. Животным не давали пищи в течение ночи и на следующее утро вводили дозу натошак (перорально с помощью зонда). В предварительно определенные периоды времени после введения дозы собирали кровь и/или CSF для измерения уровней соединения и cGMP. Анализ cGMP выполняли с помощью LC-MS/MS: 25 мкл CSF разбавляли с помощью 125 мкл искусственной CSF (STIL (20 нг/мл)), центрифугировали и вводили в колонку 25 мкл. Применяемые системы представляли собой: систему для UPLC Shimadzu SIL-30 (колонка Нурегcarb (50×1 мм (3 мкм)), градиент: водный раствор основания (10 mM карбоната аммония)-ацетонитрил (от 5 до 98% за 5,5 мин) при скорости потока 250 мкл/мин) и систему API Sciex 5500, осна-

шенную источником ESI (селективный MRM переход (масса/заряд 346,1->152,1 (время выдержки 75 мс)). Результаты этого исследования обобщены на фиг. 7. После введения однократной дозы соединения 1 отмечали следующие результаты наблюдений: приступы тремора от легкой до умеренной степени тяжести у 3/8 животных при дозе 0,5 мг/кг; седативный эффект и/или приступы тремора у 6 из 7 животных при дозе 1 мг/кг (одному животному не вводили дозу из-за ограниченного количества соединения). Плазменная фармакокинетика характеризовалась независимой от дозы линейностью. Наблюдали дозозависимое повышение уровня cGMP в CSF. Ограниченные данные индивидуумов в группе среды-носителя PDE2 H-2 (n=2 в моменты времени 1, 4 и 8 ч) были обусловлены погрешностями в анализе.

Повышенная с помощью ингибирования PDE2 синаптическая пластичность у анестезированных крыс: экспериментальное ситуационное исследование с соединением 1.

Введение.

Синаптическая пластичность является основополагающим механизмом многих нейробиологических функций. Долговременная потенция (LTP), форма продолжительного строго локализованного увеличения силы синаптической связи в гиппокампе, а также коре головного мозга, представляет собой синаптическую основу памяти и обучения (Cooke and Bliss, *Curr Opin Investig Drugs*. 2005;6(1):25-34). Увеличение и уменьшение силы синаптической связи зависит от активности пресинаптических и постсинаптических нейронов, от того, как нейронные сети головного мозга функционируют при создании чувственного представления множества объектов в памяти и получения соответствующего двигательного ответа. Разные признаки этих синаптических изменений в интактном головном мозге являются критически важными в функционировании разных типов нейронных сетей и функционировании нескольких разных систем нейронных цепей головного мозга. Следовательно, ожидается, что LTP будет ослабленной при возрастных психических и нейродегенеративных расстройствах, как, например, болезнь Альцгеймера (Bergado and Almaguer, *Neural Plast*. 2002;9 (4):217-32; Rowan et al., *Biochem Soc Trans*. 2005; 33: 563-7). Процедура, проводимая в тесно связанных участках интактного головного мозга животных, находящихся под анестезией, является эффективным способом изучения устойчивых изменений в отношении эффективной плотности и пластичности в цепи гиппокамп-кора головного мозга после тетанической электрической стимуляции с низкой и высокой частотой, доставляемой за одиночный импульс или двойной импульс (Albeni et al., *Exp Neurol*. 2007; 204:1-13). Исследования помогают расширить понимание нейронных цепей, лежащих в основе развития нарушения силы синаптической связи, т.е. определить прямой путь в цепи и роль конкретной биологической мишени, охваченной конкретными участками, в опосредовании ослабления синаптической связи. Процедура позволяет тестировать фармакологические средства, нацеленные на восстановление патологических форм нейропластичности, например, на обращение дефектов LTP и плотности нейронных сетей путем повышения эффективности синаптической передачи, что, как ожидается, имеет благоприятные эффекты в отношении связанных когнитивных и обучающих способностей (Cooke and Bliss, 2005; Albeni et al., 2007).

Фосфодиэстеразы (PDE) представляют собой класс ферментов, отвечающих за метаболическую инактивацию вторичных мессенджеров, циклического 3',5'-аденозинмонофосфата (сAMP) и циклического 3',5'-гуанозинмонофосфата (сGMP) (Francis et al., *Physiol Rev*. 2011, 9: 651-90). Классифицировали 11 семейств PDE включительно на основании их структуры, ферментативной активности и распространения (Omori and Kotera *Circ Res*. 2007; 100:309-27). Роль PDE в усилении передачи сигнала с помощью циклических нуклеотидов делает эти ферменты привлекательными мишенями для регуляции возбудимости и повышения эффектов взаимодействия нейронов. В головном мозге PDE2 в основном экспрессируется в коре головного мозга, гиппокампе и полосатом теле, где он контролирует гидролиз сAMP. За последние несколько лет исследовательские группы сосредоточились на разработке ингибиторов PDE2, нацеленных на изменение активности внутриклеточных вторичных мессенджеров, сGMP и сAMP, с оказанием влияния на пластичность и когнитивные процессы (Duinen et al., *Curr Pharm Des*. 2015; 21:3813-28; Gomez and Breitenbacher, *Bioorg Med Chem Lett*. 2013; 23: 6522-7; Xu et al., *Neurobiol Aging*. 2015; 36:955-70; Barco et al., *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7: 101-114).

В данном исследовании изучали то, приводит ли ингибирование PDE2 с помощью соединения 1 к изменениям в возбудимости или в способности проявления синаптической потенциации в зубчатой извилине анестезированных взрослых особей Спраг-Доули.

Материалы и способы.

Животные.

Данные эксперименты проводили в строгом соответствии с руководствами Международной ассоциации по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных (AAALAC) и директивой Совета Европейских Сообществ (86/609/ЕЕС) от 24-го ноября 1986 г., и их утверждал локальный этический комитет. Крыс Спраг-Доули (с весом 170-200 г на момент проведения хирургического вмешательства) содержали группой в вентилируемых клетках с установленным 12-часовым циклом света/темноты (включение света в 07:00 утра) после их доставки в виварии и содержали в контролируемых условиях окружающей среды.

Хирургическое вмешательство и электрофизиология.

Крыс анестезировали с помощью внутривенной инъекции уретана в дозе 1,5 г/кг веса тела.

Животным надевали стереотаксическую раму для вживления электродов, и температуру их тела постоянно контролировали с помощью ректального зонда и поддерживали на уровне 37°C с помощью электрической грелки. Дополнительное введение уретана (0,2-0,5 г/кг) проводили при необходимости обеспечения полной анестезии. Два небольших отверстия (диаметром 1 мм) просверливали в черепе в месте расположения структур левого гиппокампа для стимулирующего и регистрирующего электродов. Двухполярный стимулирующий электрод; пара скрученных проволок из нержавеющей стали с нанесенным полиимидным покрытием, наконечники которых находятся в горизонтальной плоскости на расстоянии 0,125 мкм друг от друга (MS303/13-B. PlasticsOne), помещали в области медиального перфорантного пути (mPP) (AP -7,5, ML -3,8, DV -2,5), а регистрирующий электрод с нанесенным нержавеющей покрытием (MS303T-2-AIU, 0,008-0,005) помещали в области зубчатой извилины (DG) дорсального отдела гиппокампа (AP -2,8, ML -3,8, DV -3,8). Твердую оболочку головного мозга прокалывали через оба отверстия и стимулирующий и регистрирующий электроды опускали очень медленно (0,2 мм/мин) через кору головного мозга и верхние слои гиппокампа в mPP и DG дорсального отдела гиппокампа. В ходе хирургического вмешательства прилагали все усилия, чтобы минимизировать страдание животного.

Наклон полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP) использовали в качестве меры возбуждающей синаптической передачи. Одиночные монофазные прямоугольные импульсы длительностью 0,1 или 0,2 мс, генерируемые блоком питания постоянного тока (MC, Германия), применяли, например, по отношению к mPP, и вызванные ответы возникали в DG. Сигналы внеклеточного полевого потенциала усиливали; фильтровали с помощью фильтра с полосой пропускания от 1 Гц до 2 кГц, преобразовывали в цифровую форму и осуществляли анализ с помощью заказного программного обеспечения. Электроды опускали до тех пор, пока не наблюдали отрицательное отклонение fEPSP с максимальным ответом. Для обеспечения стабилизации возбудимости перед измерениями предоставлялось не менее 30 мин. Затем подавали монофазные импульсы постоянного тока при значениях интенсивности стимуляции в диапазоне от 50 до 500 мкА для получения кривых ввода/вывода (I/O) и определения максимального PSA и наклонов fEPSP, и затем интенсивность стимуляции, которая обеспечивала 50% от максимального ответа (т.е. контрольный импульс), применяли в следующих экспериментах.

Индукция LTP. Затем применяли контрольную стимуляцию каждые 5 мин перед и после тетанической стимуляции. Ответы вызывали с помощью высокочастотной стимуляции (серия из 10 стимулов по 20 прямоугольных импульсов длительностью 0,2 мс при 200 Гц, интервал между стимулами 5 мс, интервал между сериями 2 с). Пять вызванных ответов усредняли для каждого момента времени измерения в ходе экспериментов: через пол часа после регистрации исходного уровня, непосредственно перед применением лекарственного средства или тетанической стимуляции (контроль индукции LTP). Величину синаптической потенциации выражали в виде процента увеличения амплитуды популяционного спайка DG (PSA), а также наклона fEPSP за интервал времени после тетанической стимуляции относительно наклонов, усредненных за весь фиксированный 30-минутный период воздействия фармакологического средства.

Ответы при выбранной интенсивности импульса собирали и усредняли не более 130 мин после тетанизации. Амплитуду популяционного спайка определяли как среднее значение между амплитудой от первого положительного пика (a) до первого отрицательного пика (b) и амплитудой от отрицательного пика (b) до второго положительного пика (c): $[(a-b)/(c-b)]/2$. Для количественной оценки наклона fEPSP, только очень ранние компоненты волны ($\Delta V/\Delta t$) измеряли во избежание помех от популяционного спайка.

Гистология.

В конце электрофизиологического исследования проводили электрическую стимуляцию с силой тока 500 мкА в течение 20 с с получением очага поражения в зоне наконечников стимулирующего и регистрирующего электродов и мозга собирали для гистологического подтверждения правильности размещения электродов. Срезы головного мозга (20 мкм) изучали с помощью светового микроскопа. Животных с неправильным размещением электродов исключали из исследования.

Лекарственное средство.

Соединение 1 растворяли в 10%-м циклодекстрине (CD)+HCl+NaCl для подкожного (SC) введения.

Статистический анализ.

Для каждого животного стабильные ответы на исходном уровне (до тетануса) в течение 30 мин усредняли и среднее значение нормализовали, принимая за 100%, и данные ответа после тетануса выражали относительно среднего значения на исходном уровне. Сравнение эффектов среды-носителя и соединения 1 после тетануса проводили за 30-минутные интервалы с применением однофакторного дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA) по рангам с последующими апостериорными сравнениями по методу Даннета относительно исходного уровня (значения 100%). Различия между обработками в определенные моменты времени проверяли с помощью двустороннего критерия Стьюдента. Все процедуры статистического анализа проводили с применением программного обеспечения StatExact.

Результаты.

Соединение 1 не оказывало влияние на базальную синаптическую передачу, поскольку значимых

и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства.

7. Применение по п.6, где

психотические расстройства выбраны из группы шизофрении; шизофреноформного расстройства; шизоаффективного расстройства; бредового расстройства; психотического расстройства, вызванного употреблением определенных веществ; расстройств личности параноидального типа и расстройства личности шизоидного типа;

тревожные расстройства выбраны из группы панического расстройства; агорафобии; специфической фобии; социальной фобии; обсессивно-компульсивного расстройства; посттравматического стрессового расстройства; острого стрессового расстройства и генерализованного тревожного расстройства;

двигательные расстройства выбраны из группы болезни Хантингтона и дискинезии; болезни Паркинсона; синдрома беспокойных ног и эссенциального тремора; синдрома Туретта и других тиковых расстройств;

расстройства, связанные с употреблением определенных веществ, выбраны из группы злоупотребления алкоголем; алкогольной зависимости; алкогольного абстинентного синдрома; алкогольного абстинентного синдрома с делирием, психотического расстройства, вызванного приемом алкоголя; амфетаминовой зависимости; амфетаминового абстинентного синдрома; кокаиновой зависимости; кокаинового абстинентного синдрома; никотиновой зависимости; никотинового абстинентного синдрома; опиоидной зависимости и опиоидного абстинентного синдрома;

аффективные расстройства выбраны из депрессии; мании; биполярного расстройства I типа, биполярного расстройства II типа; циклотимического расстройства; дистимического расстройства; большого депрессивного расстройства; терапевтически резистентной депрессии и аффективного расстройства, вызванного употреблением определенных веществ;

нейродегенеративные расстройства выбраны из группы болезни Паркинсона; болезни Хантингтона; деменции; болезни Альцгеймера; мультиинфарктной деменции; СПИД-ассоциированной деменции или лобно-височной деменции;

расстройства или состояния, включающие в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности, выбраны из группы деменции, ассоциированной с болезнью Альцгеймера; мультиинфарктной деменции; деменции вследствие болезни с тельцами Леви; алкогольной деменции или персистирующей деменции, вызванной употреблением определенных веществ; деменции, ассоциированной с внутричерепными опухолями или черепно-мозговой травмой; деменции, ассоциированной с болезнью Хантингтона; деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона; СПИД-ассоциированной деменции; деменции вследствие болезни Пика; деменции вследствие болезни Крейтцфельда-Якоба; делирии; амнестического расстройства; посттравматического стрессового расстройства; инсульта; прогрессирующего надъядерного паралича; олигофрении; нарушения способности к обучению; синдрома дефицита внимания и гиперактивности (ADHD); умеренного когнитивного нарушения; синдрома Аспергера; возрастного когнитивного нарушения и когнитивного нарушения, связанного с восприятием, вниманием, обучением или памятью;

расстройства, связанные с запоминанием и консолидацией памяти, выбраны из расстройств памяти.

8. Применение фармацевтической композиции по п.3 для лечения или предупреждения расстройства центральной нервной системы, опосредуемого активностью фосфодиэстеразы 2, выбранного из группы психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; расстройств, связанных с употреблением определенных веществ; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства.

9. Применение по п.8, где

психотические расстройства выбраны из группы шизофрении; шизофреноформного расстройства; шизоаффективного расстройства; бредового расстройства; психотического расстройства, вызванного употреблением определенных веществ; расстройств личности параноидального типа и расстройства личности шизоидного типа;

тревожные расстройства выбраны из группы панического расстройства; агорафобии; специфической фобии; социальной фобии; обсессивно-компульсивного расстройства; посттравматического стрессового расстройства; острого стрессового расстройства и генерализованного тревожного расстройства;

двигательные расстройства выбраны из группы болезни Хантингтона и дискинезии; болезни Паркинсона; синдрома беспокойных ног и эссенциального тремора; синдрома Туретта и других тиковых расстройств;

расстройства, связанные с употреблением определенных веществ, выбраны из группы злоупотребления алкоголем; алкогольной зависимости; алкогольного абстинентного синдрома; алкогольного абстинентного синдрома с делирием, психотического расстройства, вызванного приемом алкоголя; амфетаминовой зависимости; амфетаминового абстинентного синдрома; кокаиновой зависимости; кокаинового абстинентного синдрома; никотиновой зависимости; никотинового абстинентного синдрома; опиоидной

зависимости и опиоидного абстинентного синдрома;

аффективные расстройства выбраны из депрессии; мании; биполярного расстройства I типа, биполярного расстройства II типа; циклотимического расстройства; дистимического расстройства; большого депрессивного расстройства; терапевтически резистентной депрессии и аффективного расстройства, вызванного употреблением определенных веществ;

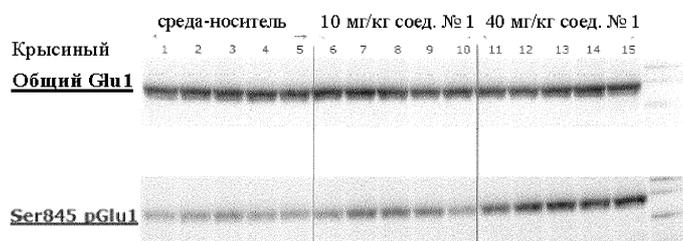
нейродегенеративные расстройства выбраны из группы болезни Паркинсона; болезни Хантингтона; деменции; болезни Альцгеймера; мультиинфарктной деменции; СПИД-ассоциированной деменции или лобно-височной деменции;

расстройства или состояния, включающие в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности, выбраны из группы деменции, ассоциированной с болезнью Альцгеймера; мультиинфарктной деменции; деменции вследствие болезни с тельцами Леви; алкогольной деменции или персистирующей деменции, вызванной употреблением определенных веществ; деменции, ассоциированной с внутричерепными опухолями или черепно-мозговой травмой; деменции, ассоциированной с болезнью Хантингтона; деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона; СПИД-ассоциированной деменции; деменции вследствие болезни Пика; деменции вследствие болезни Крейтцфельдта-Якоба; делирии; амнестического расстройства; посттравматического стрессового расстройства; инсульта; прогрессирующего надъядерного паралича; олигофрении; нарушения способности к обучению; синдрома дефицита внимания и гиперактивности (ADHD); умеренного когнитивного нарушения; синдрома Аспергера; возрастного когнитивного нарушения и когнитивного нарушения, связанного с восприятием, вниманием, обучением или памятью;

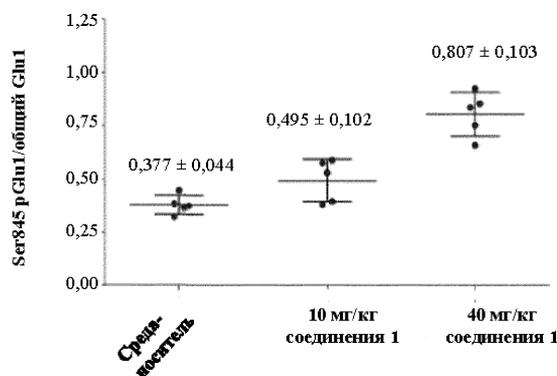
расстройства, связанные с запоминанием и консолидацией памяти, выбраны из расстройств памяти.

10. Способ получения фармацевтической композиции по п.3, отличающийся тем, что фармацевтически приемлемый носитель тщательно смешивают с терапевтически эффективным количеством соединения по п.1 или 2.

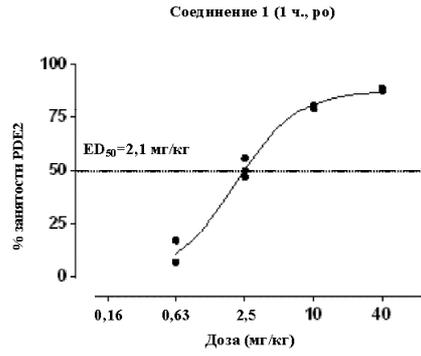
11. Способ лечения расстройства центральной нервной системы, опосредуемого активностью фосфодиэстеразы 2, выбранного из группы психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; наркотической зависимости; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства; предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по п.1 или 2.



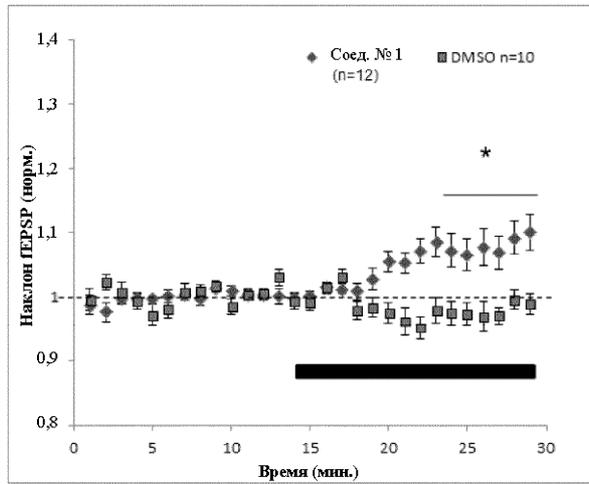
Фиг. 1a



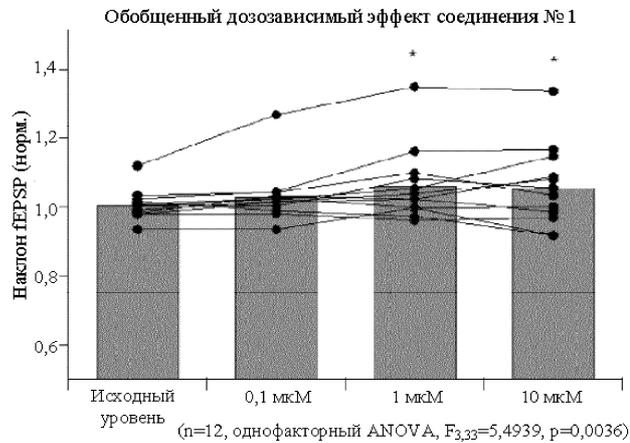
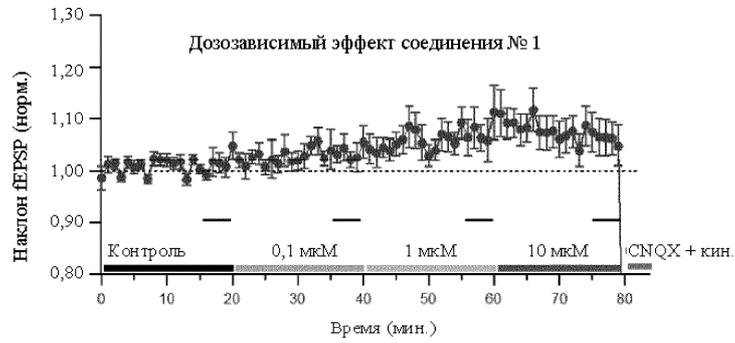
Фиг. 1b



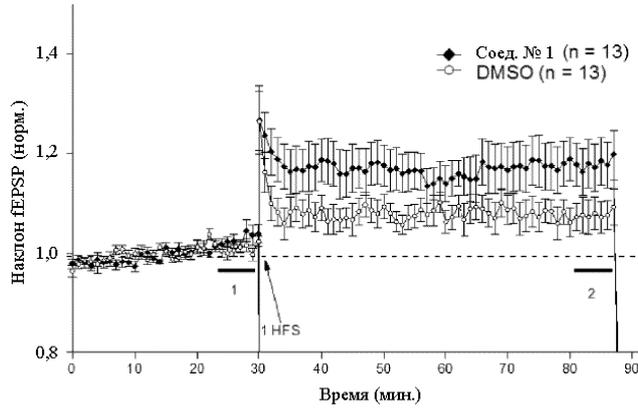
Фиг. 2



Фиг. 3

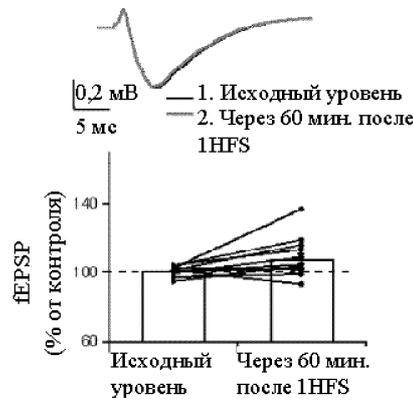


Фиг. 4



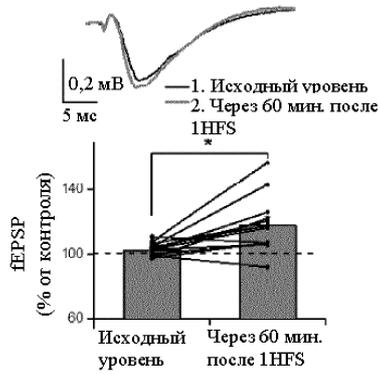
Фиг. 5а

Контроль средней-носителем (DMSO)

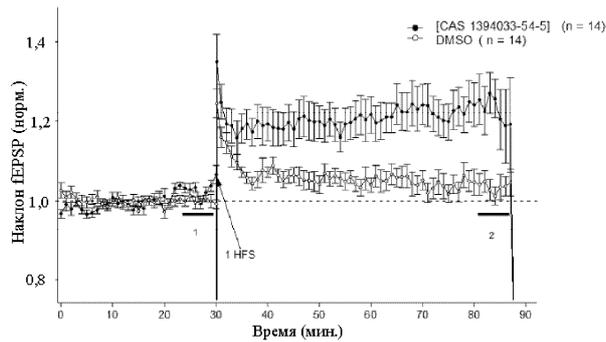


Фиг. 5b₁

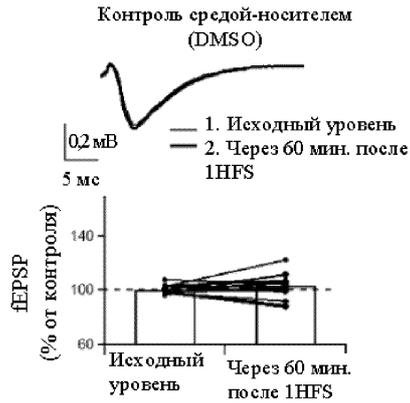
Соед. № 1



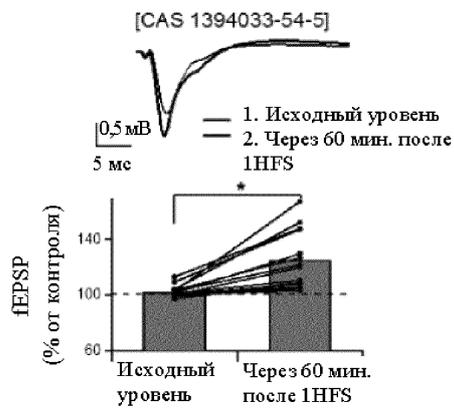
Фиг. 5b₂



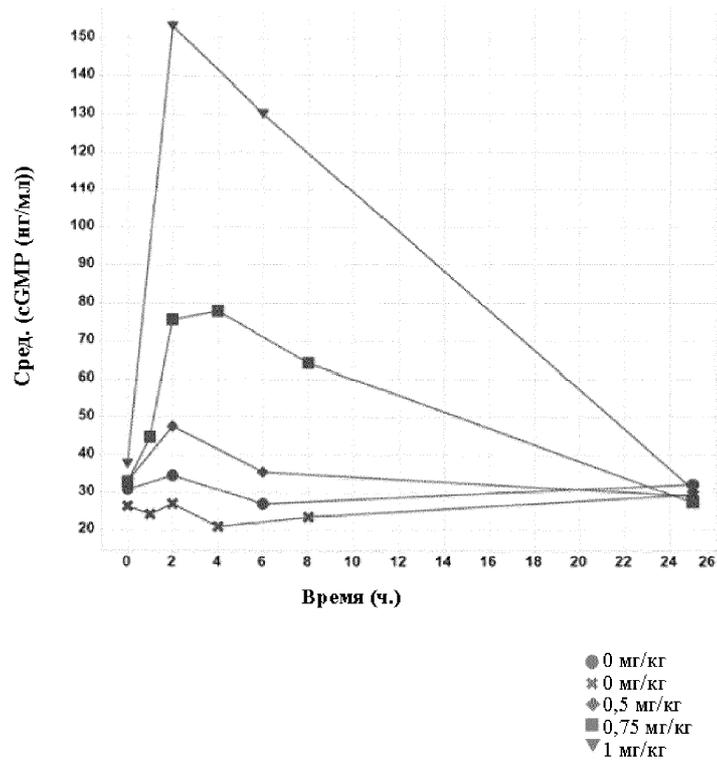
Фиг. 6а



Фиг. 6b₁



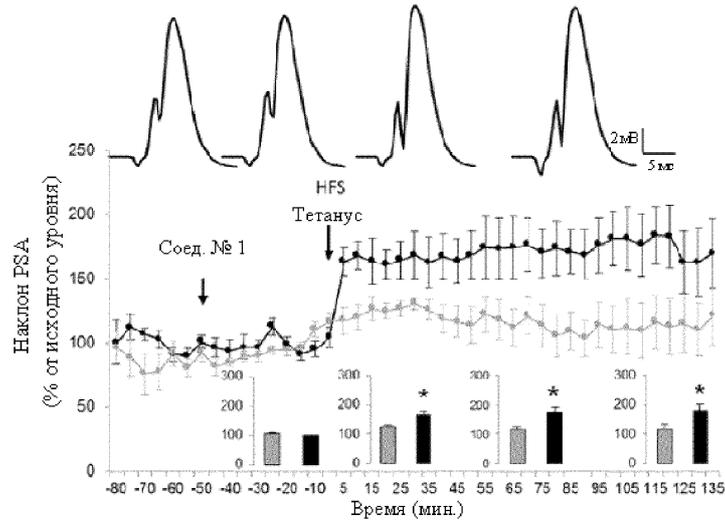
Фиг. 6b₂



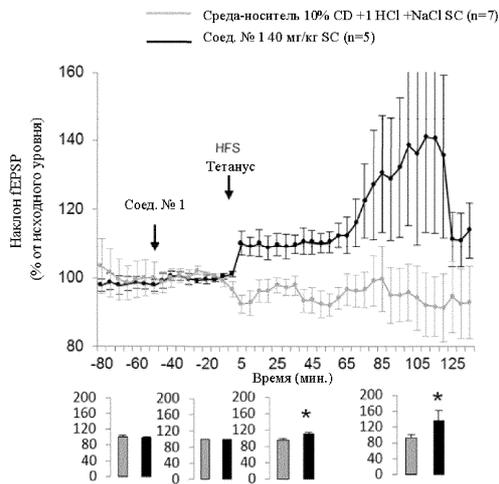
Фиг. 7



Фиг. 8а



Фиг. 8b



Фиг. 8с

