

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201991895** (13) **A2**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.01.09

(22) Дата подачи заявки
2015.01.20

(51) Int. Cl. *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 31/4015 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)
A61P 25/06 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ МОДУЛЯТОРЫ ИЛИ ОРТОСТЕРИЧЕСКИЕ АГОНИСТЫ МЕТАБОТРОПНОГО ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОГО РЕЦЕПТОРА 2 ПОДТИПА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **61/929,795; 14153887.6; 14153880.1; 14183324.4; 14187429.7; 62/091,668**

(32) **2014.01.21; 2014.02.04; 2014.02.04; 2014.09.03; 2014.10.02; 2014.12.15**

(33) **US; EP; EP; EP; EP; US**

(62) **201691467; 2015.01.20**

(71) Заявитель:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:
Клейн Брайан Д. (US), Лаврейсен Хильде, Пайп Стефан Мария Кристиан (BE), Тваймэн Рой Е. (US), Ван Осселар Нэнси Эулалие Сильвен (BE), Уайт Х. Стивен (US), Сестер Марк Андре (BE), Сид-Нуньес Хосе Мария, Грабанко-Суарес Андрес Авелино (ES), Боун Роджер Фрэнсис (GB)

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

(57) Настоящее изобретение относится к комбинациям, содержащим положительный аллостерический модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2") или его фармацевтически приемлемую соль или сольват или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват и лиганд, который представляет собой белок синаптических везикул 2А ("SV2А").

A2

201991895

201991895

A2

**КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ МОДУЛЯТОРЫ
ИЛИ ОРТОСТЕРИЧЕСКИЕ АГОНИСТЫ МЕТАБОТРОПНОГО ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОГО
РЕЦЕПТОРА 2 ПОДТИПА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к комбинациям, содержащим положительный аллостерический модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2") или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, и лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2А ("SV2А").

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Термином "эпилепсия" описывают состояние, при котором у индивидуума имеют место рецидивирующие эпилептические припадки, вызванные хроническим процессом в глубинных структурах мозга. Эпилепсия относится скорее к клиническому симптому, а не к отдельной нозологической форме, поскольку существует большое количество форм и причин эпилепсии. При использовании определения эпилепсии как двух или более неспровоцированных эпилептических припадков частота возникновения эпилепсии оценивается примерно в 0,3-0,5 процента в различных популяциях во всем мире, при этом распространенность эпилепсии оценивают в 5-10 человек на 1000.

Важной стадией в оценке и ведении пациента с эпилептическим припадком является определение типа имевшего места эпилептического припадка. Основной характеристика, которая позволяет отличать различные категории эпилептических припадков, заключается в определении того, является ли судорожная активность парциальной (синоним с фокальной) или генерализованной.

К парциальным припадкам относятся такие припадки, при которых судорожная активность ограничена отдельными областями коры головного мозга. Если сознание полностью сохраняется в течение эпилептического припадка, то клинические проявления

рассматривают как относительно простые, а эпилептический припадок называют простым парциальным припадком. Если сознание нарушается, то эпилептический припадок называют сложным парциальным припадком. Важная дополнительная подгруппа включает эпилептические припадки, которые начинаются с парциального припадка, а затем диффузно распространяются по всей коре головного мозга, которые известны как парциальные припадки с вторичной генерализацией.

Генерализованные эпилептические припадки одновременно вовлекают диффузные участки мозга билатерально-симметричным образом. Малые эпилептические припадки или легкая форма эпилептических припадков характеризуются внезапными кратковременными провалами в сознании без утраты контроля над положением тела. Атипичные малые эпилептические припадки обычно включают большую продолжительность в провале сознания, менее бурное начало и прекращение и более выраженные моторные признаки, которые могут включать фокальные или латерализирующие признаки. Генерализованные тонико-клонические или большие эпилептические припадки, являющиеся основным типом генерализованных эпилептических припадков, характеризуются бурным началом без предвестников. В начальной фазе эпилептического припадка обычно имеют место тоническая судорога мышц, нарушенное дыхание, значительное усиление симпатического тонуса, приводящее к увеличению частоты сердечных сокращений, кровяного давления и размера зрачков. Через 10-20 сек. тоническая фаза эпилептического припадка обычно переходит в клоническую фазу, которая состоит из чередования периодов миорелаксации и тонического мышечного сокращения. Периоды релаксации постепенно увеличиваются до конца иктальной фазы, которая обычно продолжается не более 1 мин. Постиктальная фаза характеризуется невосприимчивостью, мышечной расслабленностью и повышенной саливацией, которая может вызвать хрипящее дыхание и частичное нарушение проходимости дыхательных путей. Атонические припадки характеризуются внезапной потерей тонуса постуральных мышц, продолжающейся 1-2 сек. Сознание кратковременно нарушается, но обычно не сопровождается послеприпадной

спутанностью сознания. Миоклонические припадки характеризуются внезапным и кратковременным сокращением мышц, которое может вовлекать часть тела или тело полностью.

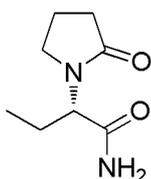
Белок синаптических везикул 2A ("SV2A") был определен как противосудорожная мишень широкого спектра в моделях парциальной и генерализованной эпилепсии. Результаты исследований, осуществленных на животных моделях и тканях человека, свидетельствуют о том, что изменения экспрессии SV2A приводят в результате к развитию эпилепсии (для обзора см., например: (a) Mendoza-Torreblanca et al. "Synaptic vesicle protein 2A: basic facts and role in synaptic function" *European Journal of Neuroscience* 2013, pp. 1-11; (b) Kaminski RM, et al. "Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs". В: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, et al., editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. Доступен на <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/>).

Точная роль SV2A остается неясной, но результаты исследований свидетельствуют о том, что изменения экспрессии SV2A затрагивают синаптическую функцию (Nowack et al. "Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A" *PLoS One* 2011, Volume 6 (12), e29560). Также было выдвинуто предположение, что SV2A является ключевой фигурой в экзоцитозе и вовлечен в передачу нервных импульсов (Crowder et al. "Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A)" *Proc Nat Acad Sci USA* 1999, 96, pp. 15268-15273), а результаты исследований на нокаутных мышцах свидетельствуют, что недостаток SV2A приводит в результате к дисбалансу между глутаматергической и GABA-ергической передачей нервного импульса (Venkatesan et al. "Altered balance between excitatory and inhibitory inputs onto CA pyramidal neurons from SV2A-deficient but not SV2B-deficient mice" *J Neurosci Res* 2012, 90, pp. 2317-2327). Пониженная экспрессия SV2A может являться причиной судорожной активности и может быть вовлечена в прогрессирование эпилепсии (van Vliet et al. "Decreased expression of synaptic vesicle protein 2A, the

binding site for levetiracetam, during epileptogenesis and chronic epilepsy" *Epilepsia* 2009, 50, pp. 422-433; Feng et al. "Down-regulation of synaptic vesicle protein 2A in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy" *J Mol Neurosci* 2009, 39, pp. 354-359; Toering et al. "Expression patterns of synaptic vesicle protein 2A in focal cortical dysplasia and TSC-cortical tubers" *Epilepsia* 2009, 50, pp. 1409-1418) и эпилептогенез у пациентов с опухолями головного мозга (de Groot et al. "Expression of synaptic vesicle protein 2A in epilepsy-associated brain tumors and in the peritumoral cortex" *Neuro-Oncology* 2010, 12, pp. 265-273).

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

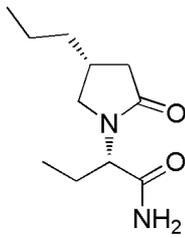
Леветирацетам, (-) - (S) - α -этил-2-оксо-1-пирролидинацетамид или (S) - 2-(2-оксопирролидин-1-ил) бутанамид,



является противозэпилептическим лекарственным средством. Леветирацетам не продемонстрировал активность в традиционных моделях острых форм (тесты с максимальным электрошоком и пентилентетразолом при эпилептических припадках), но было обнаружено, что он эффективен в моделях хронической эпилепсии и в генетических моделях генерализованной эпилепсии. Был показан

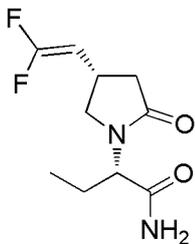
высокий резерв безопасности по сравнению с другими противоэпилептическими лекарственными средствами (Klitgaard "Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs" *Epilepsia* 2001, 42 (Supplement 4), pp. 13-18). Его выпускают под торговой маркой Keppra®, он доступен в виде таблеток, в виде перорального раствора и в виде концентрата, из которого готовят раствор для вливания. Keppra® был утвержден в Европе в качестве монотерапии у пациентов возрастом от 16 лет с впервые диагностированной эпилепсией, при лечении парциальных припадков (судорог) с вторичной генерализацией или без нее и в качестве дополнительной терапии для применения с другими противоэпилептическими лекарственными средствами при лечении парциальных припадков с генерализацией или без нее у пациентов возрастом от 1 месяца; миоклонических припадков у пациентов возрастом от 12 лет с ювенильной миоклонической эпилепсией; и первичных генерализованных тонико-клонических припадков у пациентов возрастом от 12 лет с идиопатической генерализованной эпилепсией (www.ema.europa.eu). Keppra® также был утвержден в США в качестве дополнительной терапии для лечения парциальных припадков у пациентов возрастом от 1 месяца; миоклонических припадков у пациентов возрастом 12 лет и старше с ювенильной миоклонической эпилепсией; и первичных генерализованных тонико-клонических припадков у пациентов возрастом 6 лет и старше с идиопатической генерализованной эпилепсией. Keppra XR®, доступный в форме таблеток с замедленным высвобождением, был утвержден в США для дополнительного лечения парциальных припадков у пациентов возрастом 16 лет и старше с эпилепсией (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>).

Бриварацетам, 4-п-пропильный аналог леветирацетама, (2S)-2-[(4R)-оксо-4-пропил-пирролидин-1-ил]бутанамид,



проходит стадию клинических испытаний и исследуется в качестве монотерапии при парциальных припадках и постгерпетической невралгии, а также в качестве дополнительной терапии при рефракторных парциальных припадках, болезни Унферрихта-Лундборга у подростков и взрослых и при фотогенной эпилепсии (www.clinicaltrials.gov).

Селетрацетам, (2S)-2-[(4S)-4-(2,2-дифторвинил)-2-оксо-пирролидин-1-ил]бутанамид,



был протестирован в клинических испытаниях.

Способы получения данных трех соединений известны из литературы. Например, способы получения леветирацетама раскрыты, к примеру, в патентных документах EP 0162036 и в GB 2225322. Способ получения бриварацетама раскрыт, например, в патентном документе WO 01/62726. Способ получения селетрацетама известен, например, из патентного документа WO2005/121082. Альтернативные способы получения данных трех соединений раскрыты в патентном документе EP1806339.

Была установлена целесообразность применения противоэпилептических лекарственных средств при неврологических и психических расстройствах, включая невропатическую боль, мигрень, эссенциальный тремор, и при тревожном состоянии, шизофрении и биполярном расстройстве (Landmarck "Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders. Relations between mechanisms of action and clinical efficacy" CNS Drugs 2008, Vol. 22(1), pp. 27-47; Calabresi et al. "Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms" Trends in

Pharmacological Sciences 2007, Vol. 28(4), pp. 188-195; Rogawski and Löscher "The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions" Nat Med 2004, Vol. 10, pp. 685-692).

Было установлено, что леветирацетам эффективен или потенциально эффективен при широком спектре психоневрологических расстройств, включая аффективные расстройства (Muralidharan and Bhagwagar "Potential of levetiracetam in mood disorders: a preliminary review" CNS Drugs 2006, Vol. 20, pp. 969-979; Mula et al. "The role of anticonvulsant drugs in anxiety disorders: a critical review of the evidence" J Clin Psychopharmacol 2007, Vol. 27, pp. 263-272), тревожные расстройства (Kinrys et al. "Levetiracetam as adjunctive therapy for refractory anxiety disorders" J Clin Psychiatry 2007, Vol. 68, pp. 1010-1013; Zhang et al. "Levetiracetam in social phobia: a placebo controlled pilot study" J Psychopharmacol 2005, Vol. 19, pp. 551-553; Kinrys et al. "Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder" J Clin Psychiatry 2006, Vol. 67, pp. 211-214), боль (Enggaard et al. "Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models" Eur J Pain 2006, Vol. 10, pp. 193-198; Dunteman "Levetiracetam as an adjunctive analgesic in neoplastic plexopathies: case series and commentary" J Pain Palliative Care Pharmacother 2005, Vol. 19, pp. 35-43; Price "Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies" Clin J Pain 2004, Vol. 20, pp. 33-36), двигательные расстройства (Bushara et al. "The effect of levetiracetam on essential tremor" Neurology 2005, Vol. 64, pp. 1078-1080; McGavin et al "Levetiracetam as a treatment for tardive dyskinesia: a case report" Neurology 2003, Vol. 61, pp. 419; Woods et al. "Effects of levetiracetam on tardive dyskinesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study" J Clin Psychiatry 2008, Vol. 69, pp. 546-554; Zivkovic et al. "Treatment of tardive dyskinesia with levetiracetam in a transplant patient" Acta Neurol Scand 2008, Vol. 117, pp. 351-353; Striano et al. "Dramatic response to levetiracetam in post-ischaemic Holmes' tremor" J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007,

Vol. 78, pp. 438-439), и полагают, что он проявляет потенциально положительные эффекты в отношении когнитивных функций (Piazzini et al. "Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial epilepsy" *Epilepsy Research* 2006, Vol. 68, pp. 181-188; de Groot et al. "Levetiracetam improves verbal memory in high-grade glioma patients" *Neuro-oncology* 2013, Vol. 15(2), pp. 216-223; Bakker et al. "Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment" *Neuron* 2012, Vol. 74, pp. 467-474; для обзора: Eddy et al. "The cognitive impact of antiepileptic drugs" *Ther Adv Neurol Disord* 2011, Vol. 4(6), pp. 385-407 и ссылки, указанные в данном документе; Wheless "Levetiracetam in the treatment of childhood epilepsy" *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2007, Vol. 3(4), pp. 409-421) и поведенческие симптомы при деменции (Dolder and Nealy "The efficacy and safety of newer anticonvulsants in patients with dementia" *Drugs Aging* 2012, Vol. 29(8), pp. 627-637). Данные от животных и некоторые результаты предварительных клинических испытаний свидетельствуют о том, что леветирацетам может обладать потенциалом сдерживания посттравматической эпилепсии, такой как эпилепсии, спровоцированные эпилептическим статусом, травматическим повреждением головного мозга и ишемическим инсультом, и, по-видимому, оказывает нейропротективные эффекты. Потенциал леветирацетама для ослабления эпилептогенеза или когнитивной дисфункции остается выяснить посредством окончательных клинических исследований и исследований на животных (для обзора: Löscher and Brandt "Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research" *Pharmacol Rev* 2010, Vol. 62, 668-700; Shetty "Prospects of levetiracetam as a neuroprotective drug against status epilepticus, traumatic brain injury and stroke" *Front. Neur.* 2013, 4:172. Doi: 10.3389/fneur.2013.00172), поскольку он проявил противозепилептогенную активность в киндлинг модели у мышей и крыс. Также было выдвинуто предположение, что леветирацетам тормозит высвобождение глутамата (Lee et al. "Levetiracetam inhibits glutamate transmission through

presynaptic P/Q-type calcium channels on the granule cells of the dentate gyrus" *British Journal of Pharmacology* 2009, Vol. 158, pp. 1753-1762).

Было обнаружено, что селетрацетам и бриварацетам уменьшают степень тяжести дистонии в модели на хомяке, мутантном по dt^{sz} , и могут быть полезны для некоторых пациентов, страдающих от дискинетического и дистонического двигательного расстройства (Hamann et al. "Brivaracetam and seletracetam, two new SV2A ligands, improve paroxysmal dystonia in the dt^{sz} mutant hamster" *European Journal of Pharmacology* 2008, Vol. 601, pp. 99-102).

Недавно были обнаружены положительные аллостерические модуляторы $mGluR2$ в качестве перспективных новых терапевтических подходов для лечения ряда заболеваний ЦНС, включая эпилепсию, и некоторые ПАМ $mGluR2$ в настоящее время проходят клинические испытания в отношении лечения шизофрении и депрессии, связанных с чувством неполноценности (www.clinicaltrials.gov, см., например: JNJ-40411813/ADX71149 by Addex Therapeutics and Janssen Pharmaceuticals, Inc.). Исходное предположение, что лекарственные средства, которые ослабляют глутаматергическую передачу нервного импульса, могут быть эффективны для лечения эпилепсии, было выдвинуто по результатам неклинических исследований непосредственных эффектов со смешанными агонистами рецепторов $mGlu2/3$ (Moldrich et al. "Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy" *Eur J Pharmacol.* 2003, Vol. 476, pp. 3-16). Была установлена неэффективность LY379268 и LY389795, двух агонистов рецепторов $mGlu2/3$ при блокировке MES эпилептических припадков вплоть до доз, вызывающих двигательную недостаточность, но были выявлены как эффективные в модели со стимуляцией в 6 Гц в зависимости от дозы (Barton et al. "Comparison of the effect of glutamate receptor modulators in the 6 Hz and maximal electroshock seizure models" *Epilepsy Research* 2003, Vol. 56, pp. 17-26). Продолжительное введение агониста $mGlu2/3$ парадоксально индуцировало судорожную активность в ходе длительных токсикологических исследований (Dunayevich et al. "Efficacy and tolerability of an $mGlu2/3$ agonist in the treatment of

generalized anxiety disorder" *Neuropsychopharmacology*. 2008, Vol. 33(7), pp. 1603-10). Этот парадоксальный эффект может быть связан с индуцированными агонистом изменениями чувствительности рецепторной системы (тахифилаксия), но, тем не менее, его не отмечали в доклинических исследованиях эпилепсии на модельных объектах. Напротив, положительные аллостерические модуляторы модулируют непрерывную передачу нервного импульса, но не оказывают непосредственного стимулирующего действия, снижая тем самым риск развития тахифилаксии.

Перед судорожной активностью по результатам измерения отмечают повышение уровней внеклеточного глутамата в гиппокампе человека, и данное повышение сохраняется в ходе эпилептогенной активности (During and Spencer "Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain" *Lancet* 1993, Vol. 341(8861), pp. 1607-10), предоставляя таким образом подтверждение идеи, что снижение уровней глутамата может оказывать благоприятный эффект при лечении эпилепсии. Фактически, при судорожной активности уровни глутамата повышаются до потенциально нейротоксичных уровней. Судорожная активность приводит в результате к прогрессивному структурному повреждению головного мозга у человека, индуцируя дополнительные отклонения в метаболизме глутамата (Petroff et al. "Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus" *Epilepsia* 2002, Vol. 43(7), pp. 703-10). Таким образом, предполагают, что положительный аллостерический модулятор mGluR2 или ортостерический агонист mGluR2 могут защищать от индуцированного эпилептического припадком повреждения нейронов.

В патентных документах WO2009/033704 и WO2010/130424 раскрыты положительные аллостерические модуляторы mGluR2, их применения и способы синтеза данных соединений. В патентных документах WO1997/18199 и WO2003/104217 раскрыты соединения-модуляторы моторных аминокислотных рецепторов, для которых позже была показана ортостерическая агонистическая активность в отношении mGlu2/3 (см., например, Rorick-Kehn et al. (2007) *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* Vol. 321, No. 1, pp. 308-317), дополнительно в научной и патентной

литературе раскрыты дополнительные примеры соединений, обладающих ортостерической агонистической активностью в отношении mGlu2/3, а в патентном документе WO2008/150233 раскрыты соединения с аллостерической активирующей активностью в отношении mGluR2.

Доступные в настоящее время противозепилептические средства не влияют исключительно на глутаматергическую передачу нервного импульса. Их механизм действия обычно объясняют изменением баланса между возбуждающей (опосредованной глутаматом) и тормозящей (опосредованной GABA) передачей нервного импульса (Johannessen Landmark "Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders: relations between mechanisms of action and clinical efficacy" CNS Drugs 2008, Vol. 22(1), pp. 27-47).

Существенным ограничивающим фактором в применении лигандов SV2A является переносимость и профиль побочных эффектов. Например, эффективная доза леветирацетама для парциальных приступов составляет 1000 мг, 2000 мг и 3000 мг, которую вводят два раза в сутки. Побочные эффекты, отмеченные для леветирацетама, включают агрессивное или беспокойное поведение, тревожность, изменение личности, лихорадку, кашель или хрипоту, плач, деперсонализацию, диарею, ксеростомию, эйфорию, жар, общее чувство дискомфорта или болезненности, головную боль, гипервентиляцию, нерегулярное сердцебиение, раздражительность, боль в суставах, снижение аппетита, поясничные боли или боли в боку, депрессию, ломоту и боли в мышцах, тошноту, болезненное или затрудненное мочеиспускание, паранойю, острое реагирование или чрезмерную эмоциональность, быстрое изменяющееся настроения, беспокойство, дрожательный паралич, тремор, нехватку воздуха, сонливость или необычную вялость, боль в горле, заложенный нос или насморк, потоотделение, нарушение сна, необычную утомляемость или слабость и рвоту. Таким образом, по-прежнему сохраняется необходимость в обеспечении эффективного лечения низкой эффективной дозой леветирацетама и более благоприятным профилем побочных эффектов для лечения эпилепсии и связанных с ней расстройств, не только для взрослых, но также и для пациентов детского возраста.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фигура 1. Дозозависимый эффект для стимулированного 6 Гц 44 мА определения ED₅₀ для соед. № 2 и LEV отдельно и в комбинации.

Фигура 2. Изоболографический анализ для комбинации соед. № 1 с леветирацетамом (LEV) в 6 Гц (44 мА) анализе. Исходные значения ED₅₀ (показаны ниже) определяли как для соед. № 1, так и для LEV (точки на графике по осях x и y; заштрихованные ромбы). Теоретическая линия аддитивности соединяет рассчитанные значения ED₅₀ для двух соединений (сплошная черная линия). На график нанесены теоретические ED₅₀ (+SEM) для трех комбинаций с фиксированными соотношениями доз (LEV: соед. № 1): 1:3 – заштрихованные квадраты/сплошная черная линия, 1:1 – заштрихованные, направленные вверх треугольники/сплошная черная линия, и 3:1 – заштрихованные, направленные вниз треугольники/сплошная черная линия. Дозы для экспериментального лечения изначально были производными теоретических значений, и их корректировали в соответствии с наблюдаемыми эффектами. Также показаны экспериментально установленные значения ED₅₀ (+ SEM) для каждой комбинации с фиксированными соотношениями доз: 1:3' – незаштрихованные квадраты/пунктирная линия, 1:1' – незаштрихованные, направленные вверх треугольники/пунктирная линия и 3:1' – незаштрихованные, направленные вниз треугольники/пунктирная линия. Сравнения между теоретическими и экспериментально установленными значениями ED₅₀ проводили при помощи t-критерия (***) P<0,001). N=8 на группу. На фигуре 2 соотношение LEV и соед. № 1 отображено следующим образом:

соотношение LEV: соед. № 1	
■ 1:3	ED ₅₀ (LEV) = 345 мг/кг (211-485) (внутрибрюшинно, i.p.) ED ₅₀ (соед. № 1) = 10,2 мг/кг (3,1-12,4) (подкожно, s.c.)
▲ 1:1	
▼ 3:1	
--□-- 1:3'	
--△-- 1:1'	
--▽-- 3:1'	

Фигура 3: исследования комбинаций для соед. № 25-а с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА).

При дозе 10 мг/кг, *s.c.*, соед. № 25-а повышает эффективность LEV, что приводит примерно к 70-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствует о положительной фармакодинамической взаимосвязи.

фигура 4: исследования комбинаций для соед. № 2-а с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА). При дозе 10 мг/кг, *s.c.*, соед. № 2-а повышает эффективность LEV, что приводит примерно к 35-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствует о положительной фармакодинамической взаимосвязи.

фигура 5: исследования комбинаций для соед. № 6-b с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА). При дозе 10 мг/кг, *p.o.*, соед. № 6-b повышает эффективность LEV, что приводит примерно к 100-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствует о положительной фармакодинамической взаимосвязи.

фигура 6: исследования комбинаций для LY-404039 с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА). При дозе 5 мг/кг, *s.c.*, LY-404039 повышает эффективность LEV, что приводит примерно к 27-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствует о положительной фармакодинамической взаимосвязи.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к комбинации, содержащей

(a) лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение, описанное в данном документе, относится к фармацевтической комбинации, в частности к фармацевтическому комбинированному продукту, содержащему

(a) лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединение, представляющее собой положительный

аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват; и

(с) по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к описываемой в данном документе комбинации для применения в качестве лекарственного препарата.

Дополнительный вариант осуществления по настоящему изобретению относится к применению описываемой в данном документе комбинации для производства лекарственного препарата или фармацевтического продукта для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли и биполярных и связанных с ними расстройств.

Дополнительный вариант осуществления по настоящему изобретению относится к применению описываемой в данном документе комбинации для производства лекарственного препарата или фармацевтического продукта для нейропротекции.

Дополнительный вариант осуществления по настоящему изобретению относится к применению описываемой в данном документе комбинации для производства лекарственного препарата или фармацевтического продукта для предупреждения эпилептогенеза.

Дополнительный вариант осуществления относится к лечению или предупреждению у субъекта эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли; и биполярных и связанных с ними расстройств, предусматривающему одновременное или последовательное введение нуждающемуся в этом субъекту лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул ("SV2A"); и соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа

("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата в количествах, которые будут терапевтически эффективными при совместном введении лиганда SV2A и соединения mGluR2.

Дополнительный вариант осуществления относится к описываемой в данном документе комбинации для нейропротекции; или к описываемой в данном документе комбинации для применения в нейропротекции.

Дополнительный вариант осуществления относится к описываемой в данном документе комбинации для предупреждения эпилептогенеза; или к описываемой в данном документе комбинации для применения в предупреждении эпилептогенеза.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения у пациентов эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли; биполярных и связанных с ними расстройств, предусматривающему введение комбинации с фиксированной дозой

(a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата

в количествах, которые могут быть терапевтически эффективными при совместном введении лиганда SV2A и соединения mGluR2.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу нейропротекции при помощи комбинации, которая определена в данном документе.

В дополнительном варианте осуществления настоящее

изобретение относится к способу антиэпилептогенеза при помощи комбинации, которая определена в данном документе.

Дополнительный вариант осуществления относится к способу лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли; биполярных и связанных с ними расстройств, причем указанный способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества комбинации или комбинированного продукта, которые содержат

(a) лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват

нуждающемуся в этом субъекту, такому как теплокровное животное, в частности, человеку.

Дополнительный вариант осуществления относится к способу нейропротекции, причем указанный способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества комбинации или комбинированного продукта, которые содержат

(a) лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват

нуждающемуся в этом субъекту, такому как теплокровное животное, в частности, человеку.

Дополнительный вариант осуществления относится к способу

антиэпилептогенеза, причем указанный способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества комбинации или комбинированного продукта, которые содержат

(a) лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2А ("SV2А"); и

(b) соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или соединение, представляющее собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват

нуждающемуся в этом субъекту, такому как теплокровное животное, в частности, человеку.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическому продукту или коммерческой упаковке, которые содержат комбинацию в соответствии с описываемым в данном документе настоящим изобретением, в частности вместе с инструкциями, для одновременного, отдельного или последовательного ее применения в лечении или предупреждении эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли, биполярных и связанных с ними расстройств.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическому продукту или коммерческой упаковке, которые содержат комбинацию в соответствии с описываемым в данном документе настоящим изобретением, в частности вместе с инструкциями, для одновременного, отдельного или последовательного ее применения в нейропротекции.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическому продукту или коммерческой упаковке, которые содержат комбинацию в соответствии с описываемым в данном документе настоящим изобретением, в частности вместе с инструкциями, для одновременного, отдельного или последовательного ее применения с

целью антиэпилептогенеза.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к комбинации, содержащей количество, которое в совокупности является терапевтически эффективным в отношении эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли; биполярных и связанных с ними расстройств,

(a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и по меньшей мере одного фармацевтически приемлемого носителя.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к комбинации, содержащей количество, которое в совокупности является терапевтически эффективным в качестве нейропротектора,

(a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и по меньшей мере одного фармацевтически приемлемого носителя.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к комбинации, содержащий количество, которое в совокупности является терапевтически эффективным в предупреждении эпилептогенеза,

(a) лиганда, представляющего собой белок синаптических

везикул 2A ("SV2A"); и

(b) соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и по меньшей мере одного фармацевтически приемлемого носителя.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению

(a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и

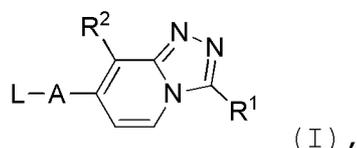
(b) соединения, представляющего собой положительный аллостерический модулятор ("РАМ") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или соединения, представляющего собой ортостерический агонист метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата

для получения комбинированного продукта в соответствии с настоящим изобретением.

Компоненты (b) комбинации по настоящему изобретению в целом называют в данном документе "соединениями mGluR2", или "РАМ mGluR2/соединениями-агонистами mGluR2", или "положительным аллостерическим модулятором mGluR2/соединением-ортостерическим агонистом mGluR2", что означает, что соединения в основном обладают активностью в отношении метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа и, в частности, выбраны из положительных аллостерических модуляторов (РАМ) метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа и ортостерических агонистов метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа. Специалист в данной области будет осведомлен о высокой гомологии mGluR2 и mGluR3, в связи с чем некоторые ортостерические агонисты mGluR2 также проявляют активность, аналогичную ортостерическим агонистам mGluR3. Так

дело обстоит, например, с (-)-(1R, 4S, 5S, 6S)-4-амино-2-сульфонилбицикло[3.1.0]-гексан-4,6-дикарбоновой кислотой (также известной как LY-404,039 [CAS 635318-11-5]) с $K_i=149$ нМ (рецептор mGlu2) и $K_i=92$ нМ (рецептор mGlu3), обладающей 100-кратной избирательностью к mGlu2 и mGlu3 по сравнению с mGlu4a, -6, -7a и -8a, причем у нее отсутствует активность в отношении mGlu1a и mGlu5a (Rorick-Kehn et al. (2007) The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol. 321, No. 1, pp. 308-317). Таким образом, термин "соединения mGluR2", или "РАМ mGluR2/соединения-агонисты mGluR2", или "положительный аллостерический модулятор mGluR2/соединение-ортостерический агонист mGluR2" не исключают соединения, проявляющие некоторую дополнительную второстепенную активность in vitro или in vivo.

Соединения РАМ mGluR2 комбинации по настоящему изобретению, в частности, выбраны из раскрытых в патентном документе WO2010/130424. Конкретную подгруппу указанных соединений, раскрытых в патентном документе WO2010/130424, можно охарактеризовать следующей формулой (I):



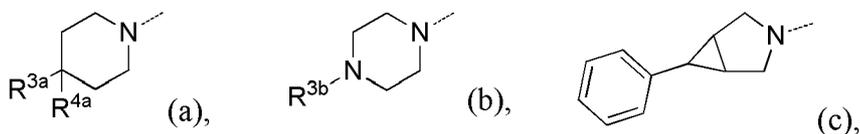
или их стереоизомерную форму, где

R^1 выбран из группы, состоящей из (C_{3-7} циклоалкил) C_{1-3} алкила-, моно- или полигалоген- C_{1-4} алкила и (C_{1-4} алкил)-O-(C_{1-4} алкила);

R^2 представляет собой галоген или полигалоген- C_{1-4} алкил;

A представляет собой ковалентную связь или $-CH_2-$;

L выбран из радикалов (a), (b) и (c):

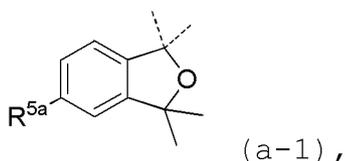


где

R^{3a} выбран из незамещенного фенила или фенила, замещенного 1 или 2 галогеновыми заместителями;

R^{4a} выбран из группы водорода, C_{1-3} алкила и галогена;

или $R^{3a}-C-R^{4a}$ вместе представляют собой радикал формулы (a-1)



где R^{5a} является водородом или галогеном;

R^{3b} выбран из группы фенила, замещенного 1 или 2 галогеновыми заместителями, пиридинила, замещенного 1 или 2 галогеновыми заместителями, незамещенного пиримидинила и пиримидинила, замещенного 1 или 2 C_1 -алкилокси-заместителями;

или их фармацевтически приемлемую соль или сольват.

Таким образом, в соответствии с конкретным вариантом осуществлением по настоящему изобретению соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), представляет собой соединение формулы (I), которая определена в данном документе.

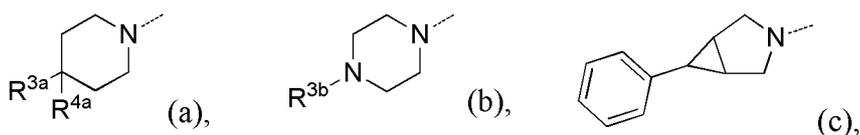
В конкретном варианте осуществления соединения формулы (I) определены в данном документе, где

R^1 выбран из группы, состоящей из циклопропилметила-, 2,2,2-трифторэтила и CH_3-O-CH_2- ;

R^2 представляет собой хлор или CF_3 ;

A представляет собой ковалентную связь или $-CH_2-$;

L выбран из радикалов (a), (b) и (c):

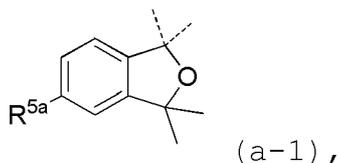


где

R^{3a} выбран из незамещенного фенила или фенила, замещенного 1 или 2 фтор-заместителями;

R^{4a} выбран из группы водорода, метила или фтора;

или $R^{3a}-C-R^{4a}$ вместе представляют собой радикал формулы (a-1)



где R^{5a} представляет собой водород или фтор;

R^{3b} выбран из группы фенила, замещенного 1 или 2 фтор-

заместителями, пиридинила, замещенного 1 или 2 фтор-заместителями, незамещенного пиримидинила и пиримидинила, замещенного 1 или 2 метокси-заместителями;

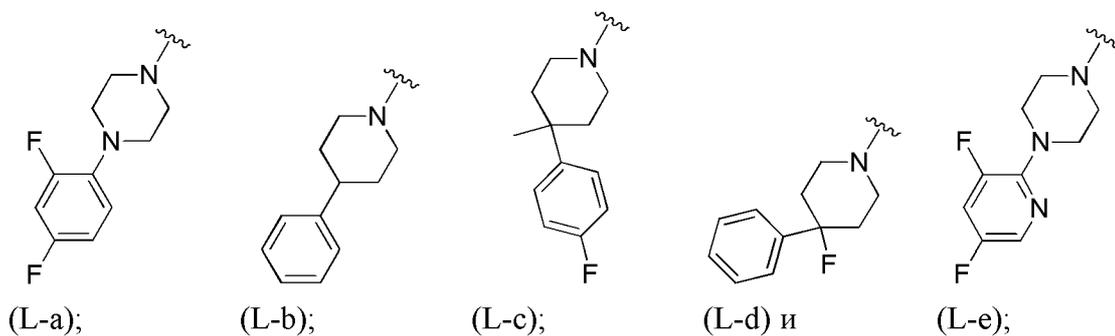
или их фармацевтически приемлемая соль или сольват.

В конкретном варианте осуществления соединения формулы (I) определены в данном документе, где

(i) если А представляет собой CH_2 ; а R^2 представляет собой трифторметил; то

R^1 представляет собой циклопропилметил-; и

L выбран из



(ii) если А представляет собой CH_2 ; а R_2 представляет собой хлор; то

R^1 представляет собой циклопропилметил-; и

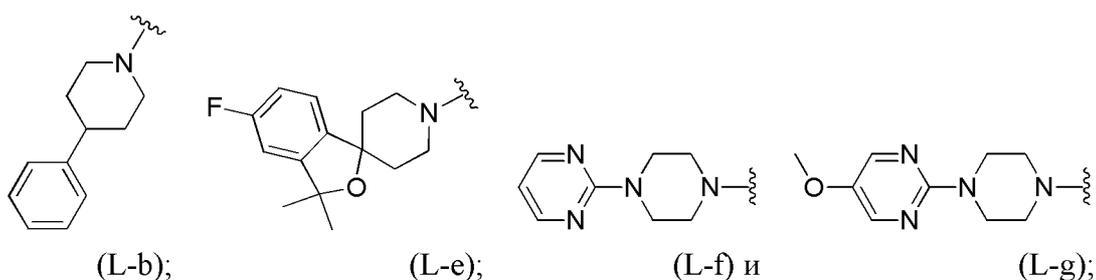
L представляет собой



(iii) если А представляет собой ковалентную связь; а R^2 представляет собой трифторметил; то

R^1 представляет собой циклопропилметил; и

L выбран из



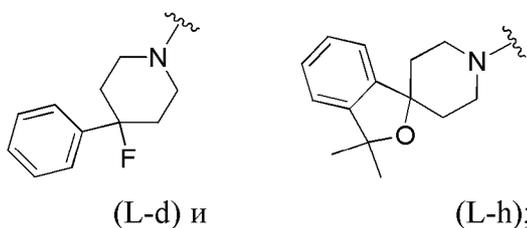
(iv) если А представляет собой ковалентную связь; а R² представляет собой Cl; то

(iv-a) R¹ представляет собой циклопропилметил, и L представляет собой



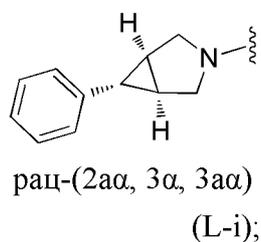
или

(iv-b) R¹ представляет собой 2,2,2-трифторэтил, и L выбран из



(v) если А представляет собой CH₂, а R¹ представляет собой -CH₂-O-CH₃; то

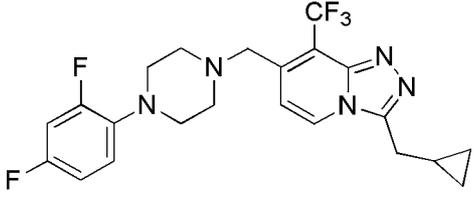
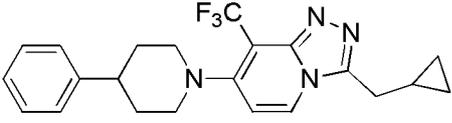
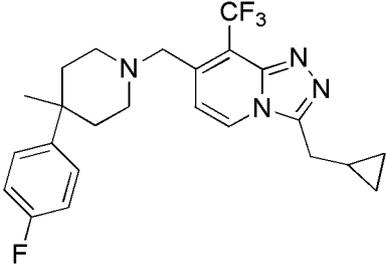
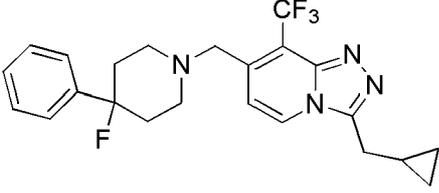
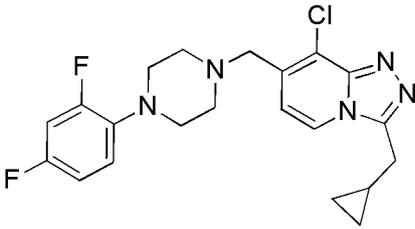
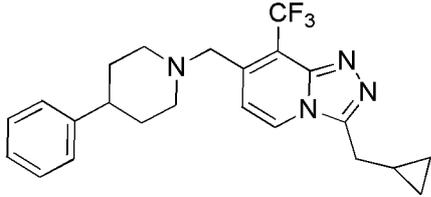
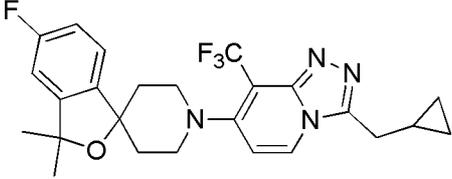
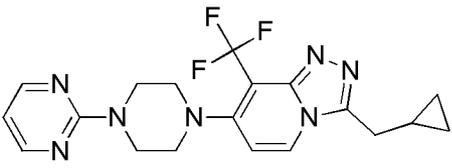
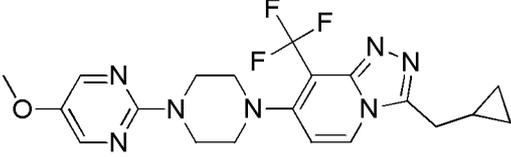
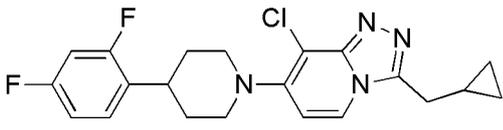
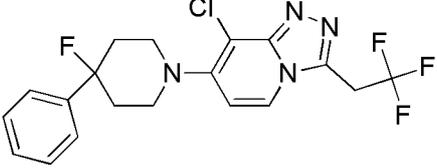
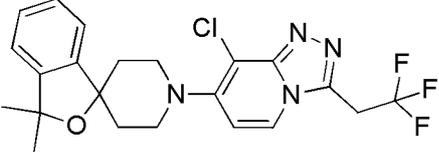
R² представляет собой -CF₃, и L представляет собой

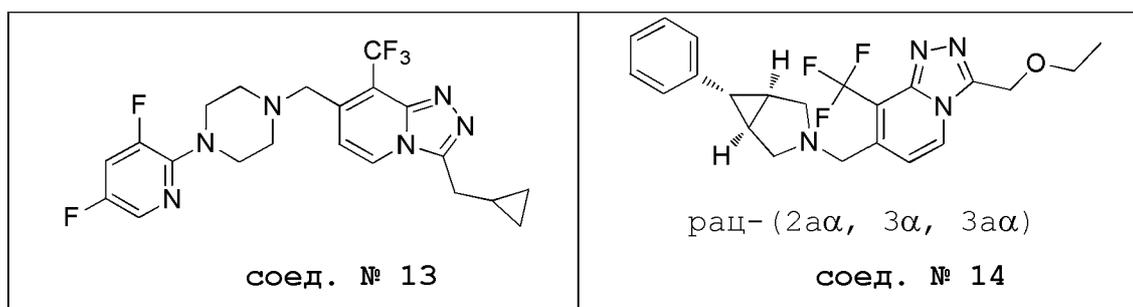


или их фармацевтически приемлемая соль или сольват.

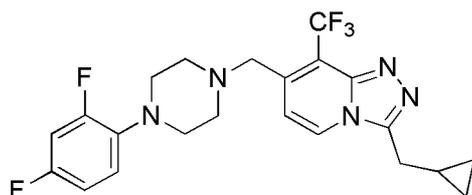
Соединения формулы (I) раскрыты в патентном документе WO2010/130424 и могут быть получены в соответствии с описываемыми в данном документе способами, которые включены в данный документ при помощи ссылки в полном их объеме.

Конкретные соединения формулы (I) включают

 <p>соед. № 1 или его хлористоводородную соль (соед. № 1a);</p>	 <p>соед. № 2 или его хлористоводородную соль (.HCl) (соед. № 2a);</p>
 <p>соед. № 3</p>	 <p>соед. № 4</p>
 <p>соед. № 5</p>	 <p>соед. № 6 или его хлористоводородную соль (соед. № 6a);</p>
 <p>соед. № 7</p>	 <p>соед. № 8</p>
 <p>соед. № 9</p>	 <p>соед. № 10</p>
 <p>соед. № 11</p>	 <p>соед. № 12</p>

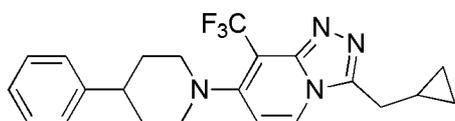


В варианте осуществления по настоящему изобретению соединение формулы (I) представляет собой



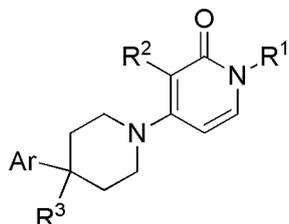
соед. № 1 или его фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно его хлористоводородную соль.

В дополнительном варианте осуществления по настоящему изобретению соединение формулы (I) представляет собой



соед. № 2 или его фармацевтически приемлемую соль, предпочтительно его хлористоводородную соль (.HCl).

Соединения PAM mGluR2 комбинации по настоящему изобретению, в частности, выбраны из соединений, раскрытых в патентном документе WO2009/033704. Указанные соединения, раскрытые в патентном документе WO2009/033704, можно обозначить следующей формулой (I-A):



(I-A),

и их стереохимически изомерные формы, где

R¹ представляет собой C₁₋₆алкил или C₁₋₃алкил, замещенный C₃-циклоалкилом, фенилом или фенилом, замещенным галогеном, трифторметилом или трифторметокси;

R^2 представляет собой галоген, трифторметил, C_1 -залкил или циклопропил;

R^3 представляет собой водород, фтор, гидроксил, гидрокси- C_1 -залкил, гидрокси- C_1 -залкилокси,

фтор- C_1 -залкил, фтор- C_1 -залкилокси или циано; и

Ar представляет собой незамещенный фенил или фенил, замещенный n радикалами R^4 , где n равно 1, 2 или 3;

R^4 выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, C_1 -залкила,

гидрокси- C_1 -залкила, полигалоген- C_1 -залкила, циано, гидроксила, амина, карбоксила,

C_1 -залкилокси- C_1 -залкила, C_1 -залкилокси, полигалоген- C_1 -залкилокси, C_1 -залкилкарбонила, моно- и ди(C_1 -залкил)амино и морфолинила; или

два соседних R^4 радикала, взятые вместе, образуют двухвалентный радикал формулы

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

$-CH=CH-NH-$ (ii) или

$-O-CH_2-CH_2-NH-$ (iii); или

R^3 и радикал R^4 в орто-положении, взятые вместе, образуют двухвалентный радикал формулы

$-CH_2-O-$ (iv) или

$-O-CH_2-$ (v);

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В конкретном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R^1 представляет собой C_1 -залкил или C_1 -залкил, замещенный C_3 -циклоалкилом, фенилом или фенилом, замещенным галогеном, трифторметилом или трифторметокси;

R^2 представляет собой галоген, трифторметил, C_1 -залкил или циклопропил;

R^3 представляет собой водород, фтор, гидроксил, гидрокси- C_1 -залкил, гидрокси- C_1 -залкилокси,

фтор- C_1 -залкил, фтор- C_1 -залкилокси или циано; и

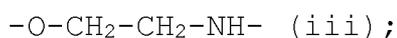
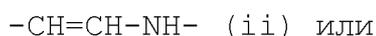
Ar представляет собой незамещенный фенил, или фенил, замещенный n радикалами R^4 , где n равно 1, 2 или 3;

R^4 выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, C_1 -залкила,

гидрокси- C_1 -залкила, полигалоген- C_1 -залкила, циано, гидроксила, amino, карбоксила,

C_1 -залкилокси- C_1 -залкила, C_1 -залкилокси, полигалоген- C_1 -залкилокси; C_1 -залкилкарбонила, моно- и ди(C_1 -залкил) amino и морфолинила; или

два соседних R^4 радикала, взятые вместе, образуют двухвалентный радикал формулы



а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В конкретном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R^1 представляет собой C_1 -залкил или C_1 -залкил, замещенный C_3 -циклоалкилом, фенилом или фенилом, замещенным галогеном, трифторметилом или трифторметокси;

R^2 представляет собой галоген, трифторметил, C_1 -залкил или циклопропил;

R^3 представляет собой водород, фтор, гидроксил, гидрокси- C_1 -залкил, гидрокси- C_1 -залкилокси, фтор- C_1 -залкил, фтор- C_1 -залкилокси или циано; и

Ar является незамещенным фенилом;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R^1 представляет собой 1-бутил, 2-метил-1-пропил, 3-метил-1-бутил, (циклопропил)метил или 2-(циклопропил)-3-этил;

R^3 представляет собой водород, фтор или циано; и

Ar является незамещенным фенилом;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R^1 представляет собой 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропил)метил или 2-(циклопропил)-1-этил;

R² представляет собой хлор;

R³ представляет собой водород или фтор; и

Ar является незамещенным фенилом;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R¹ представляет собой C₁₋₆алкил или C₁₋₃алкил, замещенный C₃₋₇циклоалкилом, фенилом или фенилом, замещенным галогеном, трифторметилом или трифторметокси;

R² представляет собой галоген, трифторметил, C₁₋₃алкил или циклопропил;

R³ представляет собой водород, фтор, гидроксил, гидрокси-C₁₋₃алкил, гидрокси-C₁₋₃алкилокси,

фтор-C₁₋₃алкил, фтор-C₁₋₃алкилокси или циано; и

Ar представляет собой фенил, замещенный n радикалами R⁴, где n равно 1, 2 или 3;

R⁴ выбран из группы, состоящей из галогена, C₁₋₃алкила, гидрокси-C₁₋₃алкила,

C₁₋₃алкилокси, полигалоген-C₁₋₃алкилокси, C₁₋₃алкилкарбонила, моно- и ди(C₁₋₃алкил)амино и морфолинила; или

два соседних R⁴ радикала, взятые вместе, образуют двухвалентный радикал формулы

-N=CH-NH- (i),

-CH=CH-NH- (ii) или

-O-CH₂-CH₂-NH- (iii); или

R³ и радикал R⁴ в орто-положении, взятые вместе, образуют двухвалентный радикал формулы

-CH₂-O- (iv),

-O-CH₂- (v);

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R¹ представляет собой 1-бутил, 2-метил-1-пропил, 3-метил-1-бутил, (циклопропил)метил или

2-(циклопропил)-1-этил;

R³ представляет собой водород, фтор или циано; и

Ar представляет собой фенил, замещенный галогеном, трифторметилом, морфолинилом или гидроксис-С₁-алкилом;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R¹ представляет собой 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропил)метил или 2-(циклопропил)-1-этил;

R² представляет собой хлор;

R³ представляет собой водород или фтор; и

Ar представляет собой фенил, замещенный по меньшей мере одной галогеновой группой;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-A) определены в данном документе, где

R¹ представляет собой 1-бутил, 3-метил-1-бутил, (циклопропил)метил или 2-(циклопропил)-1-этил;

R² представляет собой хлор;

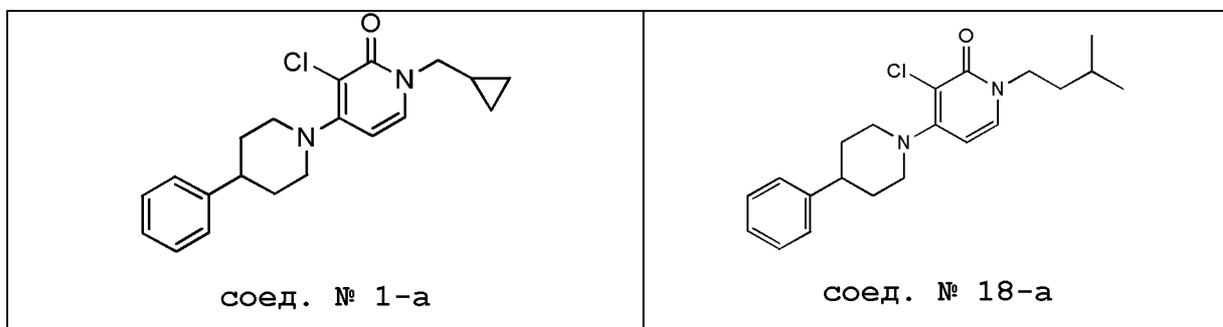
R³ представляет собой водород или фтор; и

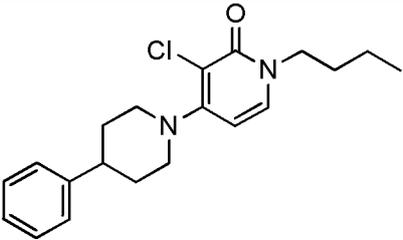
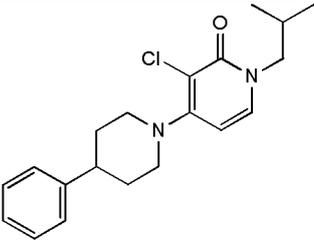
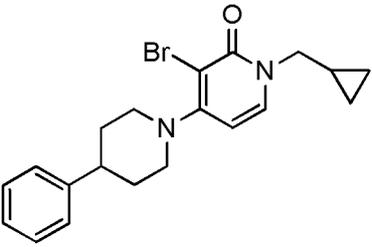
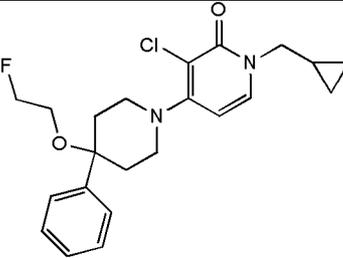
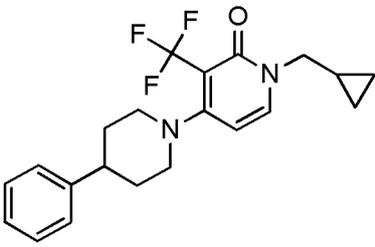
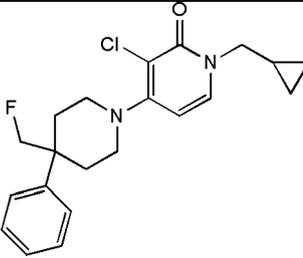
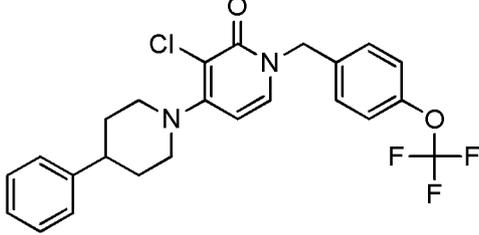
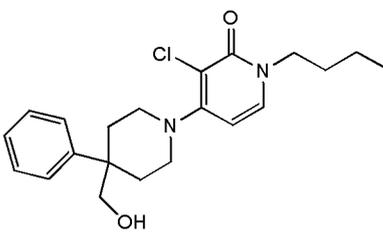
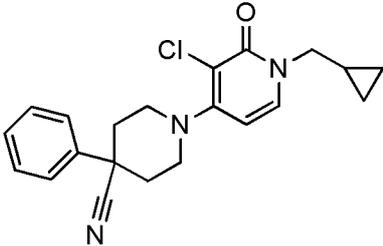
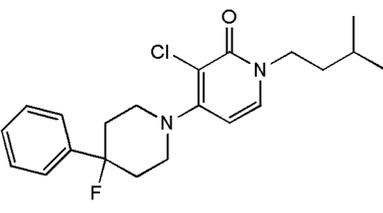
Ar представляет собой фенил, замещенный по меньшей мере двумя группами фтора;

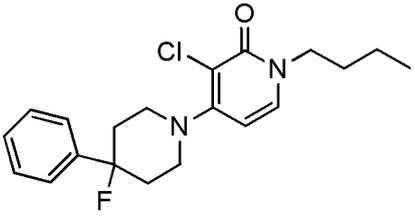
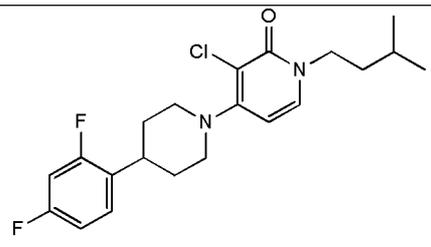
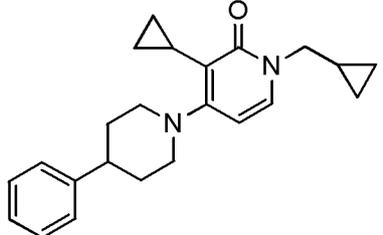
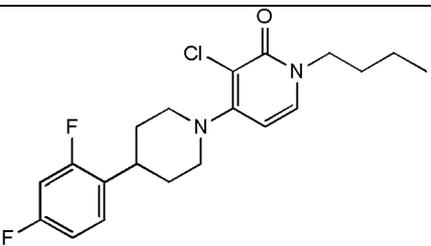
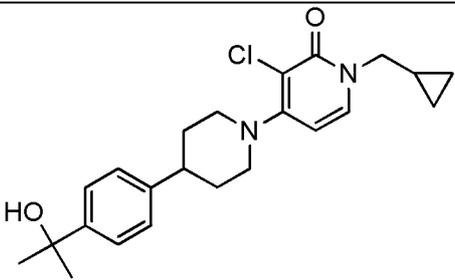
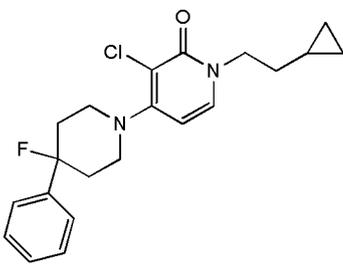
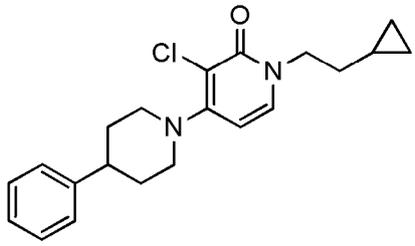
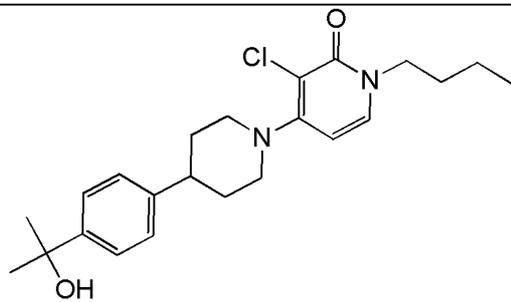
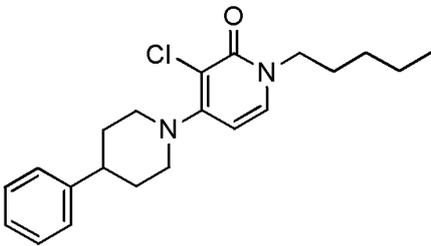
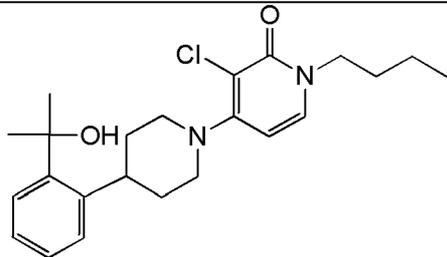
а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

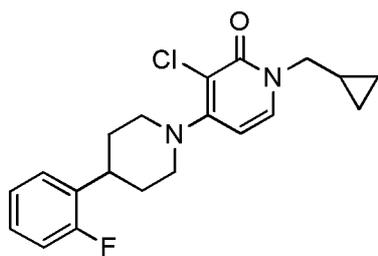
Соединения формулы (I-A) раскрыты в патентном документе WO2009/033704 и могут быть получены в соответствии с описываемыми в данном документе способами, которые включены в данный документ при помощи ссылки в полном их объеме.

Конкретные соединения формулы (I-A) включают

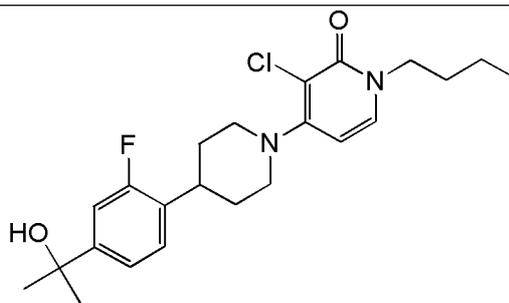


 <p>соед. № 2-а</p>	 <p>соед. № 19-а</p>
 <p>соед. № 3-а</p>	 <p>соед. № 20-а</p>
 <p>соед. № 4-а</p>	 <p>соед. № 21-а</p>
 <p>соед. № 5-а</p>	 <p>соед. № 22-а</p>
 <p>соед. № 6-а</p>	 <p>соед. № 23-а</p>

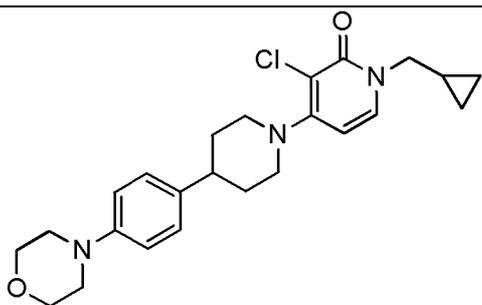
 <p>соед. № 7-а</p>	 <p>соед. № 24-а</p>
 <p>соед. № 8-а</p>	 <p>соед. № 25-а</p>
 <p>соед. № 9-а</p>	 <p>соед. № 26-а</p>
 <p>соед. № 10-а</p>	 <p>соед. № 27-а</p>
 <p>соед. № 11-а</p>	 <p>соед. № 28-а</p>



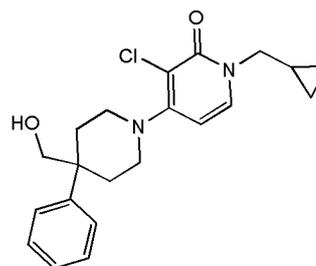
соед. № 12-а



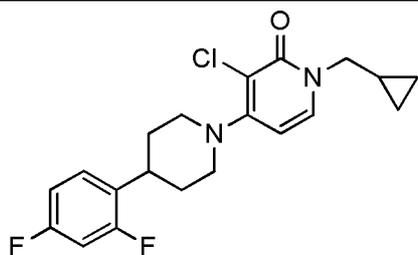
соед. № 29-а



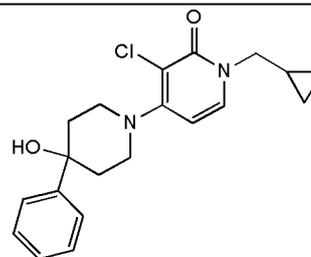
соед. № 13-а



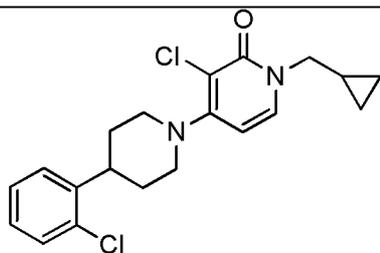
соед. № 30-а



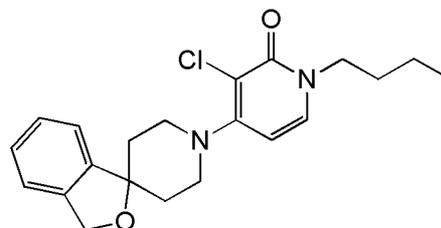
соед. № 14-а



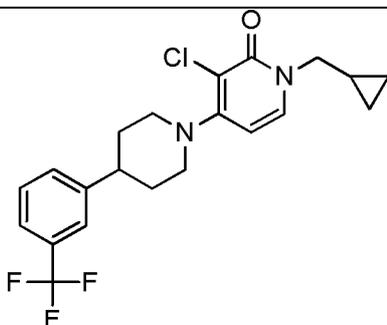
соед. № 31-а



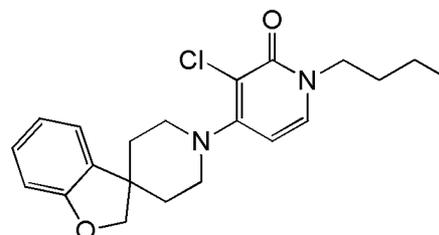
соед. № 15-а



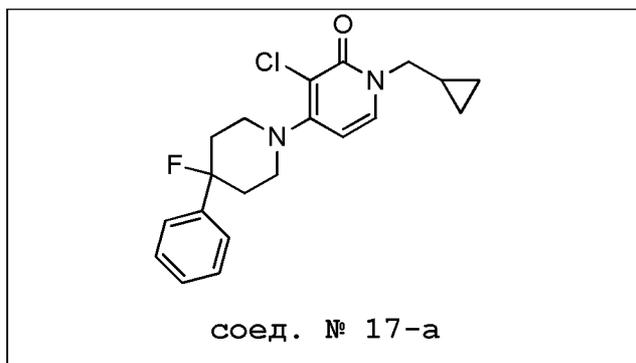
соед. № 32-а



соед. № 16-а

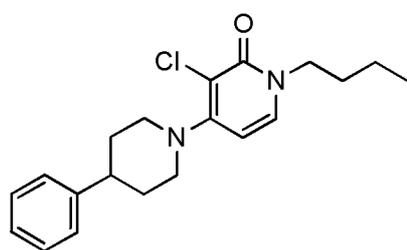


соед. № 33-а

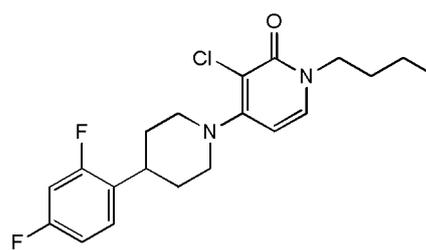


а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В варианте осуществления по настоящему изобретению соединение формулы (I-A) представляет собой

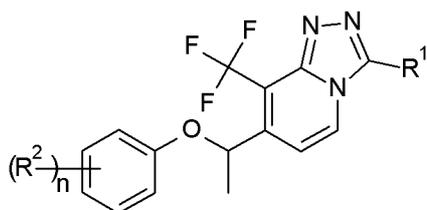


или



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват.

Соединения РАМ mGluR2 комбинации по настоящему изобретению также, в частности, выбраны из соединений, раскрытых в РСТ/ЕР2014/068676. Указанные соединения, раскрываемые в РСТ/ЕР2014/068676, можно определить следующей формулой (I-B):



(I-B),

и их стереохимически изомерные формы, где

R^1 выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила, (C_{3-8} циклоалкил) C_{1-3} алкила и

(C_{1-3} алкилокси) C_{1-3} алкила;

каждый R^2 независимо выбран из F, Cl, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моно- или

полигалоген- C_{1-3} алкила и моно- или полигалоген- C_{1-3} алкилокси;

n является целым числом, выбранным из 1, 2 и 3;

а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

Соединения PAM mGluR2 комбинации по настоящему изобретению, в частности, выбраны из соединений формулы (I-B), определенной в данном документе выше, и их стереоизомерных форм, где R¹ выбран из группы, состоящей из CH₃CH₂, CH₃CH₂CH₂, (циклопропил)метила, (циклобутил)метила, этилоксиметила и метилоксиметила; а остальные переменные являются таковыми, как определено в данном документе; и их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения PAM mGluR2 комбинации по настоящему изобретению, в частности, выбраны из соединений формулы (I-B), определенной в данном документе выше, и их стереоизомерных форм, где R¹ выбран из группы, состоящей из CH₃CH₂, (циклопропил)метила, (циклобутил)метила и метилоксиметила; а остальные переменные являются таковыми, как определено в данном документе; и их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения PAM mGluR2 комбинации по настоящему изобретению, в частности, выбраны из соединений формулы (I-B), определенной в данном документе выше, и их стереоизомерных форм, где R¹ выбран из группы, состоящей из CH₃CH₂, (циклопропил)метила, (циклобутил)метила и этилоксиметила; а остальные переменные являются таковыми, как определено в данном документе; и их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

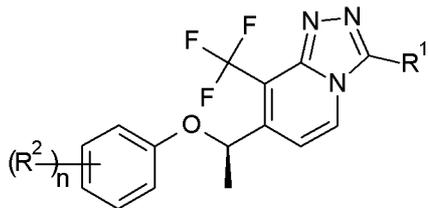
Таким образом, в соответствии с конкретным вариантом осуществления по настоящему изобретению соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2"), представляет собой соединение формулы (I-B), как определено в данном документе.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-B) являются соединениями, определенными в данном документе, где

каждый R² независимо выбран из F, Cl, CH₃, CH₃O и CF₃; а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-B) являются соединениями, которые определены в данном

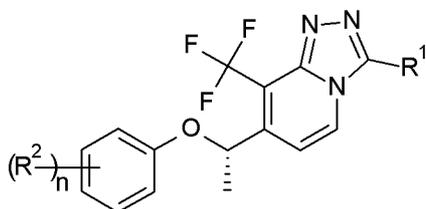
документе как имеющие формулу (I-Va)



(I-Va),

где переменные определены в формуле (I-B) в данном документе, а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединения формулы (I-B) являются соединениями, которые определены в данном документе как имеющие формулу (I-Vb)



(I-Vb);

где переменные определены в формуле (I-B) в данном документе, а также их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

Конкретные соединения формулы (I-B) включают

3-(циклопропилметил)-7-[1-(4-фторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[(1*R)-1-(4-фторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[(1*S)-1-(4-фторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[(1S)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[(1R)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[1-(2,4-дифторфенокси)этил]-8-(трифторметил)[1,2,4]триазоло-[4,3-а]пиридин;

3-(циклопропилметил)-7-[(1S)-1-(3,5-дифторфенокси)этил]-8-

(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (3, 4-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (2, 3-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (2, 5-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (2, 6-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (4-фтор-2-метоксифенокси) этил] -
8- (трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклобутилметил) -7- [1- (2, 4-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло-
[4, 3-а] пиридин;
7- [(1S) -1- (2-хлор-4-метилфенокси) этил] -3- (циклопропилметил) -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -7- [(1S) -1- (4-фтор-2-метилфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклопропилметил) -8- (трифторметил) -7- [(1S) -1- (2, 4, 6-
трифторфенокси) этил] [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
7- [1- (2, 4-дифторфенокси) этил] -3- (этоксиметил) -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло-
[4, 3-а] пиридин;
3-этил-8- (трифторметил) -7- [1- (2, 4, 6-
трифторфенокси) этил] [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
7- [1- (2, 4-дифторфенокси) этил] -3-этил-8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклобутилметил) -7- [(1*R) -1- (2, 4-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (циклобутилметил) -7- [(1*S) -1- (2, 4-дифторфенокси) этил] -8-
(трифторметил) [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (этоксиметил) -8- (трифторметил) -7- [(1*R) -1- (2, 4, 6-
трифторфенокси) этил] [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;
3- (этоксиметил) -8- (трифторметил) -7- [(1*S) -1- (2, 4, 6-
трифторфенокси) этил] [1, 2, 4] триазоло [4, 3-а] пиридин;

7- [(1*S)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-(этоксиметил)-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридин;

7- [(1*R)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-(этоксиметил)-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридин;

7- [(1*R)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-этил-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло-[4,3-а] пиридин;

7- [(1*S)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-этил-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло-[4,3-а] пиридин;

7-[1-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-пропил-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридин;

3-этил-8-(трифторметил)-7-[(1*R)-1-(2,4,6-трифторфенокси)этил]-[1,2,4] триазоло-[4,3-а] пиридин;

3-этил-8-(трифторметил)-7-[(1*S)-1-(2,4,6-трифторфенокси)этил]-[1,2,4] триазоло-[4,3-а] пиридин;

7-[(1*R)-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-пропил-8-(трифторметил)-[1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридин и

7-[(1*S)-(2,4-дифторфенокси)этил]-3-пропил-8-(трифторметил)-[1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридин.

В объем данного перечня включены их стереоизомерные формы, фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В дополнительном варианте осуществления соединение может быть выбрано из

хлористоводородной соли 3-(циклопропилметил)-7-[(1S)-1-(2,4-дифторфенокси)этил]-8-(трифторметил) [1,2,4] триазоло [4,3-а] пиридина.

Ортостерические агонисты mGluR2/mGluR2/3 комбинации по настоящему изобретению включают без ограничения, например, LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-379268; DCG-IV; LY-354740; LY-314582; LY-544344; LY-2140023;

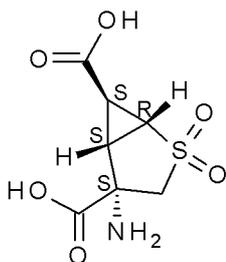
LY-181837; LY-389795; LY-446433; LY-450477; LY-395756; LY-566332; LY-541850; LY-2300559; LY-404040; LY-281223; LY-2979165; талаглюметад; MGS008; MGS0022; MGS0028; MGS0039;

(-) -2-окса-4-аминобицикло [3.1.0] гексан-4, 6-дикарбоксилат;
 (+) -4-амино-2-сульфонилбицикло [3.1.0] гексан-4, 6-дикарбоновую кислоту;
 (+) -2-амино-4-фторбицикло- [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-4-оксобицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 4S, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-4-гидоксибицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 3R, 5S, 6S-2-амино-3-фторбицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 3S, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-3-гидоксибицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 (+) -4-амино-2-сульфонилбицикло- [3.1.0] гексан-4, 6-дикарбоновую кислоту;
 (+) -2-амино-4-фторбицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-4-оксобицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 4S, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-4-гидоксибицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту;
 1S, 2R, 3R, 5S, 6S-2-амино-3-фторбицикло [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту или
 1S, 2R, 3S, 5S, 6S-2-амино-6-фтор-3-гидоксибицикло- [3.1.0] гексан-2, 6-дикарбоновую кислоту.

Конкретная группа агонистов mGluR2 включает LY-379268; DCG-IV; LY-354740;

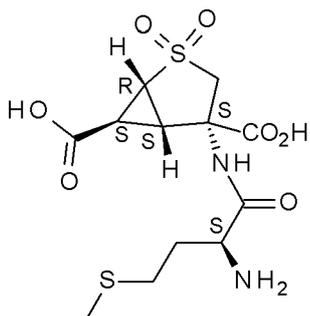
LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-544344 и LY-2140023.

Ортостерические агонисты метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа комбинации по настоящему изобретению, в частности, дополнительно выбраны агонистов, раскрываемых в WO1997/18199 и WO2003/104217, включенных в данный документ в полном их объеме. Конкретными раскрываемыми в указанных документах соединениями являются (-) - (1R, 4S, 5S, 6S) -4-амино-2-сульфонилбицикло [3.1.0] -гексан-4, 6-дикарбоновая кислота (также известная как LY-404039)



или ее соль или сольват и 2,2-диоксид (1R, 4S, 5S, 6S) -4- [[(2S) -2-амино-4- (метилтио) -1-оксобутил] амино] -2-тиабицикло [3.1.0] гексан-4, 6-дикарбоновой кислоты (также

известный как LY-2140023 [CAS 635318-55-7])



или его соль или сольват, например, его моногидрат.

Названия соединений согласно настоящему изобретению были составлены согласно правилам номенклатуры, принятым Химической реферативной службой (С.А.С.), с использованием программного обеспечения Advanced Chemical Development, Inc. (версия продукта ACD/Name 10.01.0.14105, октябрь 2006 г.). В случае таутомерных форм составляли название представленной таутомерной формы структуры. Тем не менее, следует понимать, что другая не представленная таутомерная форма также включена в объем настоящего изобретения.

Используемая в данном документе терминология "**С₁-залкил**", "**С₁-4алкил**" или "**С₁-6алкил**" в качестве группы или части группы указывает на насыщенный, прямой или разветвленный углеводородный радикал, имеющий от 1 до 3, или от 1 до 4, или от 1 до 6 атомов углерода, такой как метил, этил, 1-пропил, 1-метилэтил, бутил, 1-метилпропил, 2-метил-1-пропил, 1,1-диметилэтил, 3-метил-1-бутил, 1-пентил, 1-гексил и т.п.

Терминология "**С₃-7циклоалкил**" или "**С₃-8циклоалкил**" в качестве группы или части группы указывает на насыщенный, циклический углеводородный радикал, имеющий от 3 до 7 или от 3 до 8 атомов углерода, такой как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил.

Используемая в данном документе терминология "**галогенид**" или "**галоген**" в качестве группы или части группы относится к фтору, хлору, бромю или йоду, при этом фтор или хлор являются предпочтительными.

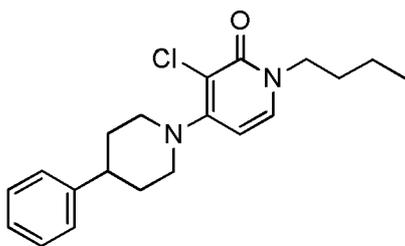
Терминология "**моно- и полигалоген-С₁-залкил**" или "**моно- и полигалоген-С₁₋₄алкил**" будет соответственно указывать на С₁-залкил или С₁₋₄алкил, как определено ранее, замещенных 1, 2, 3 или, при наличии возможности, большим количеством атомов галогенов, как определено ранее.

Во всех случаях применения в настоящем изобретении термина "**substituted**" он означает, если иное не указано или не следует четко из контекста, что один или несколько атомов водорода, предпочтительно от 1 до 3 атомов водорода, более предпочтительно от 1 до 2 атомов водорода, более предпочтительно 1 атом водорода, на атоме или радикале, обозначенном с использованием выражения "замещенный", замещены выбранным из указанной группы, при условии, что не превышает нормальная валентность, и что замещение дает в результате химически стабильное соединение, т.е. соединение, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать выделение из реакционной смеси до подходящей степени чистоты и составление в терапевтическое средство.

Используемый в данном документе, если не указано иное, термин "**противоэпилептическое средство**" и сокращение "AED" будут применяться взаимозаменяемо с термином "**противосудорожное средство**", и в контексте настоящего изобретения они относятся к средству, с помощью которого можно лечить, подавлять или предупреждать судорожную активность или иктогенез при введении средства субъекту или пациенту.

Используемый в данном документе, если не указано иное, термин "**лиганд, представляющий собой белок синаптических везикул 2A**" и сокращение "**лиганд SV2A**" будут использоваться взаимозаменяемо. Примеры лигандов SV2A включают без ограничения соединения, включенные в публикации GB 1039113, GB 1309692, EP 1262036, EP 1806339, WO 2001/062726, US 2002/094787, WO 2004/087658, WO 2005/121082, WO 2005/054188, WO 2006/128692, WO 2006/128693, WO 2007/065595, WO 2008/132139 и WO 2008/132142, WO 2011/047860, WO 2012/143116 и WO 2012/143117. Подходящие конкретные примеры лигандов SV2A включают без ограничения леветирацетам, бриварацетам и селетрацетам.

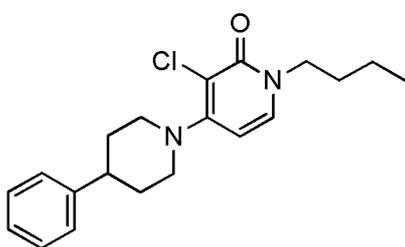
Таким образом, в варианте осуществления по настоящему



(соед. № 2-а)

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

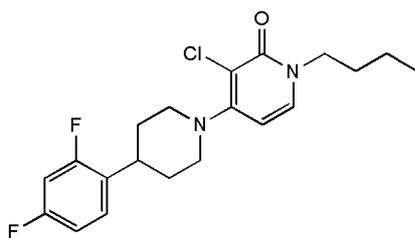
В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама; и (b) фармацевтически эффективное количество



(соед. № 2-а)

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

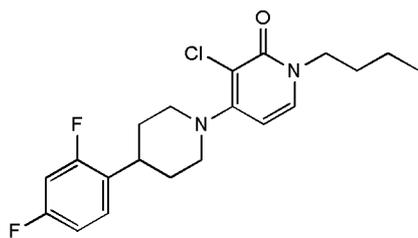
В дополнительном варианте осуществления комбинация в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама; и (b) фармацевтически эффективное количество



(соед. № 25-а)

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

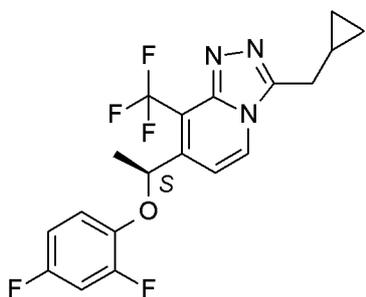
В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама; и (b) фармацевтически эффективное количество



(соед. № 25-а)

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

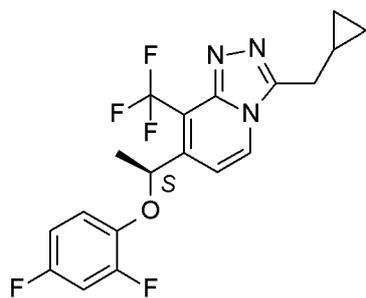
В дополнительном варианте осуществления комбинация в соответствии с настоящим изобретением содержит (а) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама; и (b) фармацевтически эффективное количество



(соед. № 6-b)

или его фармацевтически приемлемой соли, в частности его хлористоводородной соли, или его сольвата.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит (а) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама; и (b) фармацевтически эффективное количество



(соед. № 6-b)

или его фармацевтически приемлемой соли, в частности его хлористоводородной соли, или его сольвата.

В дополнительном варианте осуществления комбинация в соответствии с настоящим изобретением содержит (а) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама и (b) фармацевтически эффективное количество LY-

404039 или его фармацевтически приемлемой соли, в частности его хлористоводородной соли, или его сольвата.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама и (b) фармацевтически эффективное количество LY-404039 или его фармацевтически приемлемой соли, в частности его хлористоводородной соли, или его сольвата.

В дополнительном варианте осуществления комбинация в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама и (b) фармацевтически эффективное количество LY-2140023, или его фармацевтически приемлемой соли, или его сольвата, в частности его моногидрата.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит (a) фармацевтически эффективное количество леветирацетама или бриварацетама и (b) фармацевтически эффективное количество LY-2140023, или его фармацевтически приемлемой соли, или его сольвата, в частности его моногидрата.

Комбинированный продукт по настоящему изобретению, в частности, фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением, главным образом предназначены для лечения эпилепсии и связанных с ней расстройств.

Следует понимать, что некоторые соединения mGluR2, в частности PAM mGluR2/соединения-агонисты mGluR2 по настоящему изобретению и их фармацевтически приемлемые соли присоединения и их сольваты, могут содержать один или несколько хиральных центров и существовать в виде стереоизомерных форм.

Используемое в данном документе выражение "**соединения по настоящему изобретению**" понимают как включающий соединения PAM mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B) и соединения-агонисты mGluR2, которые раскрыты в данном документе, и их соли и сольваты.

В контексте настоящей заявки любая химическая формула со связями, показанными 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.

Выше и ниже в данном документе термины "**соединение mGluR2**" и "**РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2**" понимают как включающие их стереоизомеры и их таутомерные формы. Выше и ниже в данном документе термины "стереоизомеры", "стереоизомерные формы" или "стереохимически изомерные формы" используют взаимозаменяемо. Настоящее изобретение включает все стереоизомеры соединений по настоящему изобретению либо в виде чистого стереоизомера, либо в виде смеси двух или более стереоизомеров. Энантиомеры являются стереоизомерами, которые имеют неналагающиеся зеркальные изображения друг друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров представляет собой рацемат или рацемическую смесь. Диастереомеры (или диастереоизомеры) представляют собой стереоизомеры, которые не являются энантиомерами, т.е. они не соотносятся как зеркальные отражения. Если соединение содержит двойную связь, то заместители могут находиться в E- или Z-конфигурации. Заместители в двухвалентных циклических (частично) насыщенных радикалах могут находиться либо в цис-, либо в транс-конфигурации; например, если соединение содержит двухзамещенную циклоалкильную группу, то заместители могут быть в цис- или транс-конфигурации. Таким образом, настоящее изобретение включает энантиомеры, диастереомеры, рацематы, E-изомеры, Z-изомеры, цис-изомеры, транс-изомеры и их смеси во всех случаях, когда это возможно с химической точки зрения. Значения всех этих терминов, т.е. энантиомеры, диастереомеры, рацематы, E-изомеры, Z-изомеры, цис-изомеры, транс-изомеры и их смеси, известны специалисту в данной области. Абсолютную конфигурацию определяют согласно системе Кана-Ингольда-Прелога. Конфигурация при асимметричном атоме определяется или по R, или по S. Выделенные стереоизомеры, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут обозначаться как (+) или (-) в зависимости от направления, в котором они вращают плоскополяризованный свет. Например,

выделенные энантиомеры, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут обозначаться как (+) или (-) в зависимости от направления, в котором они вращают плоскополяризованный свет.

Если указан конкретный стереоизомер, это означает, что указанный стереоизомер практически не содержит другие изомеры, 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 изомеров. Таким образом, если соединение mGluR2, например, указано как (R), то это означает, что соединение практически не содержит изомер (S); если соединение mGluR2, например, указано как E, то это означает, что соединение практически не содержит изомер Z; если соединение mGluR2, например, указано как цис, то это означает, что соединение практически не содержит транс-изомер.

Некоторые соединения mGluR2 также могут существовать в своих таутомерных формах. Предполагается, что такие формы, ввиду того, что они могут существовать, хотя явно и не показаны вышеприведенной формулой, включены в объем настоящего изобретения.

Из этого следует, что одно соединение может существовать как в стереоизомерных, так и в таутомерных формах.

Для применения в медицине соли соединений по настоящему изобретению относятся к нетоксическим **"фармацевтически приемлемым солям"** (солям соединений по настоящему изобретению, где противоион является фармацевтически приемлемым). Однако другие соли могут быть применимыми при получении или очистке соединений в соответствии с настоящим изобретением или их фармацевтически приемлемых солей и могут охватывать кислоты и основания, которые не являются фармацевтически приемлемыми. Все соли, независимо от того, являются ли они фармацевтически приемлемыми или нет, включены в объем настоящего изобретения.

Предполагается, что фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот и оснований, упоминаемые выше или ниже в данном документе, включают терапевтически активные нетоксичные формы солей присоединения кислот и оснований, которые могут

образовывать соединения по настоящему изобретению. Подходящие фармацевтически приемлемые соли таких соединений включают соли присоединения кислот, которые могут быть, например, образованы посредством смешивания раствора соединения с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, такой как, например, неорганические кислоты, такие как галогенводородные кислоты, например, хлористоводородная или бромистоводородная кислота, серная, азотная, фосфорная и др. кислоты; или органические кислоты, такие как, например, уксусная, пропионовая, гидроксидуксусная, молочная, пировиноградная, щавелевая (т.е. этандикислота), малоновая, янтарная (т.е. бутандикислота), малеиновая, фумаровая, яблочная, винная, лимонная, метансульфоновая, этансульфоновая, бензолсульфоновая, п-толуолсульфоновая, цикламная, салициловая, п-аминосалициловая, памовая и др. кислоты. И наоборот, указанные формы солей можно превратить путем обработки соответствующим основанием в форму свободного основания. Кроме того, если соединения по настоящему изобретению несут кислотный фрагмент, то их подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать органические и неорганические основания. Соответствующие формы основных солей включают, например, соли аммония, соли щелочных и щелочноземельных металлов, например, соли лития, натрия, калия, магния, кальция и т.п., соли органических оснований, например, первичных, вторичных и третичных алифатических и ароматических аминов, таких как метиламин, этиламин, пропиламин, изопропиламин, четыре изомера бутиламина, диметиламин, диэтиламин, диэтанолламин, дипропиламин, диизопропиламин, ди-н-бутиламин, пирролидин, пиперидин, морфолин, триметиламин, триэтиламин, трипропиламин, хинуклидин, пиридин, хинолин и изохинолин; соли бензатина,

N-метил-D-глюкамина, гидрабамина, а также соли аминокислот, таких как, например, аргинин, лизин и т.п. И наоборот, форму соли можно превратить путем обработки кислотой в форму свободной кислоты.

Термин "**сольват**" включает формы присоединения растворителя, а также их соли, которые могут образовывать соединения формулы

(I). Примерами таких форм присоединения растворителя являются, например, гидраты, алкоголяты и т.п.

Получение соединений формулы (I-V)

Соединения формулы (I-V) в соответствии с настоящим изобретением в целом можно получить при помощи последовательности стадий, каждая из которых известна специалисту в данной области. В частности, соединения можно получить согласно следующим способам синтеза.

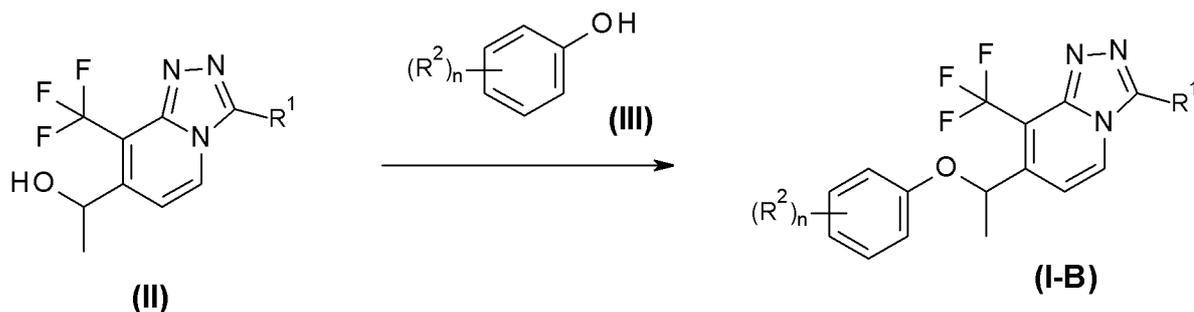
Соединения формулы (I-V) можно синтезировать в виде рацемических смесей энантиомеров, которые можно отделить друг от друга согласно известным из уровня техники процедурам разделения. Рацемические соединения формулы (I-V) можно превращать в соответствующие формы диастереомерных солей посредством реакции с подходящей хиральной кислотой. Указанные формы диастереомерных солей затем разделяют, например, с помощью селективной или фракционной кристаллизации, а энантиомеры выделяют оттуда с помощью щелочи. Альтернативный способ разделения энантиомерных форм соединений формулы (I-V) включает жидкостную хроматографию или сверхкритическую жидкостную хроматографию (SFC) с применением хиральной неподвижной фазы. Указанные чистые стереохимически изомерные формы также можно получить из соответствующих чистых стереохимически изомерных форм соответствующих исходных материалов, при условии что реакция протекает стереоспецифично.

А. Получение конечных соединений формулы (I-V)

Конечные соединения формулы (I-V) можно получить посредством реакции промежуточного соединения формулы (II) с соединением формулы (III) согласно схеме реакции (1), эту реакцию выполняют в условиях классической реакции Мицунобу. Реакцию предпочтительно проводят с фосфином и сложным эфиром или амидом азодикарбоновой кислоты в тетрагидрофуране, 1,4-диоксане, простом диэтиловом эфире, толуоле, бензоле, дихлорметане или их смесях при от -30 до 150°C при термическом нагревании или под действием микроволнового излучения. Часто применяемыми фосфинами являются трифенилфосфин и трибутилфосфин, которые обычно

сочетают с диметилазодикарбоксилатом, диэтилазодикарбоксилатом, диизопропилазодикарбоксилатом, ди-(4-хлорбензил) азодикарбоксилатом, дибензилазодикарбоксилатом, ди-трет-бутилазодикарбоксилатом, бис-(диметиламид) азодикарбоновой кислоты, дипиперидидом азодикарбоновой кислоты или диморфолидом азодикарбоновой кислоты. На схеме реакции (1) все переменные являются такими, которые определены в формуле (I-V).

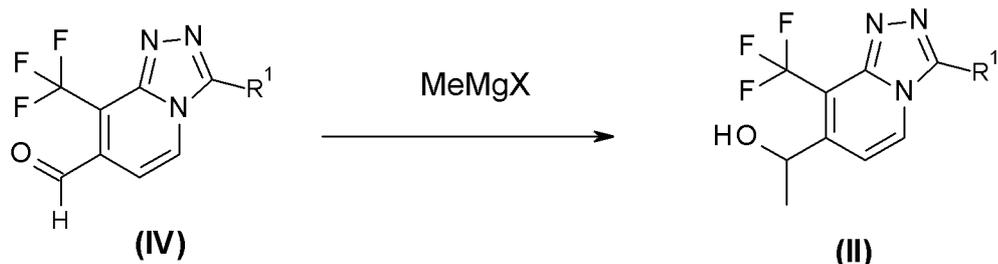
Схема реакции 1



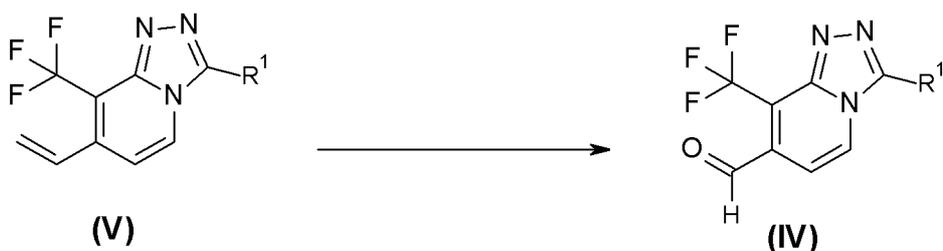
В. Получение промежуточных соединений

Экспериментальная процедура 2

Промежуточные соединения формулы (II) можно получить, подвергая промежуточное соединение формулы (IV) условиям, известным специалистам в данной области. Это проиллюстрировано на схеме реакции (2), где все переменные определены, как упомянуто в данном документе выше. Способы осуществления этих превращений хорошо известны специалистам в данной области. Обработка альдегида формулы (IV) металлорганическим соединением, таким как метиллитий или бромид метилмагния, дает соединение формулы (II). Подходящим растворителем для данной реакции является простой эфир, такой как тетрагидрофуран, и реакцию обычно осуществляют при температуре от -78°C до 40°C. На схеме реакции 2 все переменные являются такими, которые определены в формуле (I-V).

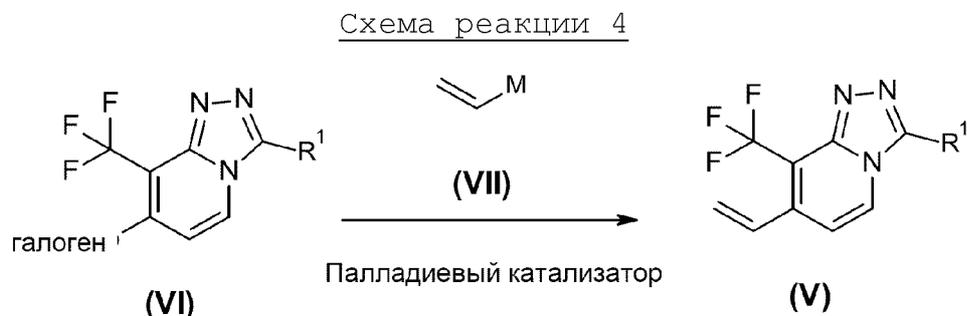
Схема реакции 2Экспериментальная процедура 3

Промежуточные соединения формулы (IV) можно получить посредством реакции промежуточного соединения формулы (V) в условиях дигидроксилирования и окислительного расщепления, которые известны специалистам в данной области и могут быть реализованы, например, с помощью оксона, тетраоксида осмия. Способ можно необязательно осуществлять в таком растворителе, как 1,4-диоксан, вода, и, как правило, при температурах от приблизительно -100°C до приблизительно 100°C . Краткое описание таких способов приведено в "Comprehensive Organic Transformations", VCH Publishers, (1989), R.C.Larock, pp.595-596. Это проиллюстрировано на схеме реакции (3), где все переменные определены, как упомянуто в данном документе выше.

Схема реакции 3Экспериментальная процедура 4

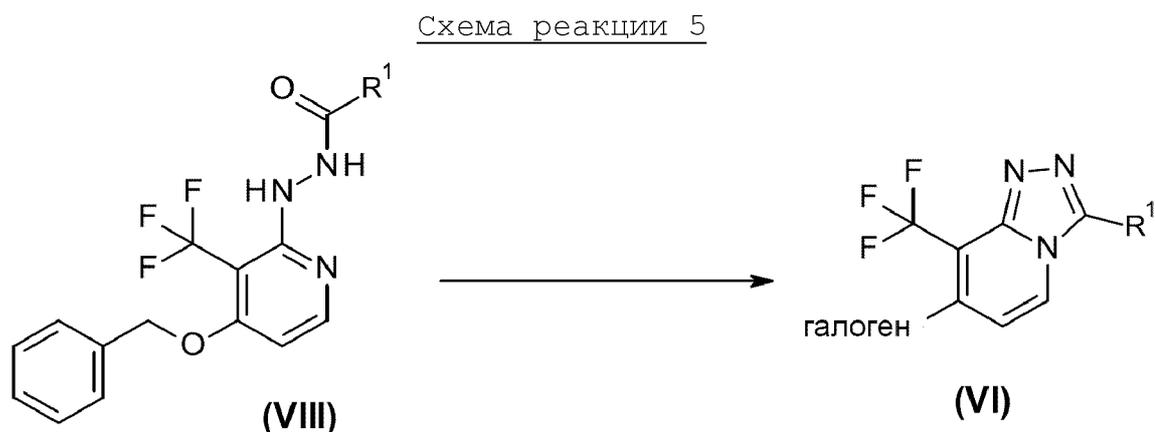
Промежуточные соединения формулы (V) можно получить посредством реакций сочетания, таких как реакции Стилле или Сузуки, промежуточного соединения формулы (VI) с соединением формулы (VII) в условиях, известных специалистам в данной области. Способ необязательно можно осуществлять в таком растворителе, как 1,4-диоксан, вода, и, как правило, при температурах от приблизительно к.т. до приблизительно 200°C в присутствии основания. Это проиллюстрировано на схеме реакции

(4), где все переменные определены, как упомянуто в данном документе выше, где М представляет собой триалкилолово, бороновую кислоту или сложный боронатный эфир, и присутствует палладиевый катализатор, а галогеном является хлор, бром или йод.



Экспериментальная процедура 5

Промежуточные соединения формулы (VI) можно получить согласно процедурам, известным из уровня техники, путем циклизации промежуточного соединения формулы (VIII) в присутствии галогенирующего средства, такого как, например, оксихлорид фосфора (V) (POCl_3), в подходящем растворителе, таком как, например, дихлорэтан, при перемешивании под действием микроволнового излучения в течение подходящего периода времени, позволяющего завершить реакцию, например, 5 мин. при температуре $140\text{--}200^\circ\text{C}$. На схеме реакции (5) R^1 определен как в формуле (I-B), а галогеном является хлор, бром или йод.

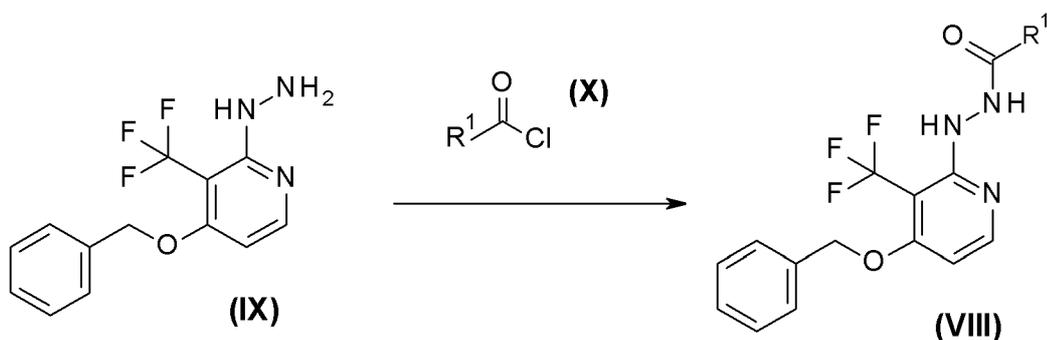


Экспериментальная процедура 6

Промежуточные соединения формулы (VIII) можно получить согласно процедурам, известным из уровня техники, посредством реакции гидразинового промежуточного соединения формулы (IX) с

галогенангидридами формулы (X). Реакцию можно осуществлять с применением инертного растворителя, такого как, например, DCM, в присутствии основания, такого как, например, триэтиламин, например, при к.т. в течение подходящего периода времени, позволяющего завершить реакцию, например, 20 мин. На схеме реакции (6) R¹ определен как в формуле (I-V).

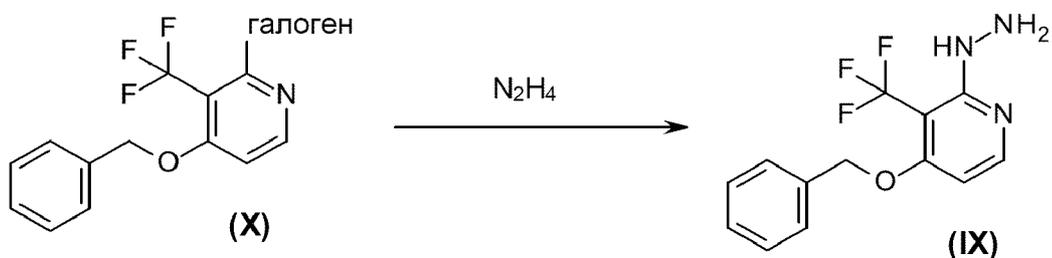
Схема реакции 6



Экспериментальная процедура 7

Промежуточные соединения формулы (IX) можно получить посредством реакции промежуточного соединения формулы (XI) с гидразином согласно схеме реакции (7), эту реакцию выполняют в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как, например, этанол, THF или 1,4-диоксан, в таких температурных условиях, как, например, нагревание реакционной смеси, например, при 160°C под действием микроволнового излучения в течение 30 мин. или путем классического термического нагревания при 70°C в течение 16 ч. На схеме реакции (7) галогеном является хлор, бром или йод.

Схема реакции 7

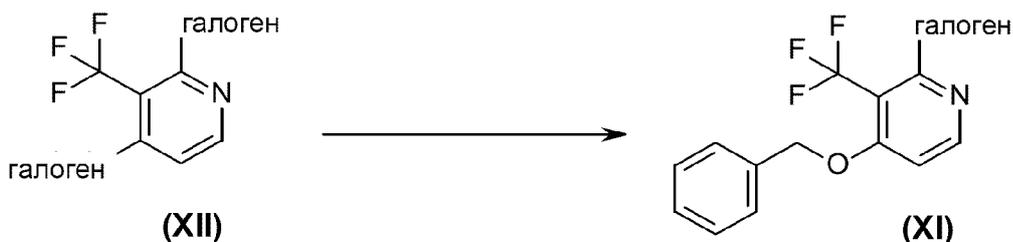


Экспериментальная процедура 8

Промежуточные соединения формулы (XI) можно получить посредством реакции промежуточного соединения формулы (XII) с бензиловым спиртом согласно схеме реакции (8), эту реакцию

выполняют в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как, например, *N,N*-диметилформамид, в присутствии подходящего основания, такого как, например, гидрид натрия, при к.т. в течение подходящего периода времени, позволяющего завершить реакцию, такого как, например, 1 ч. На схеме реакции (8) галогеном является хлор, бром или йод.

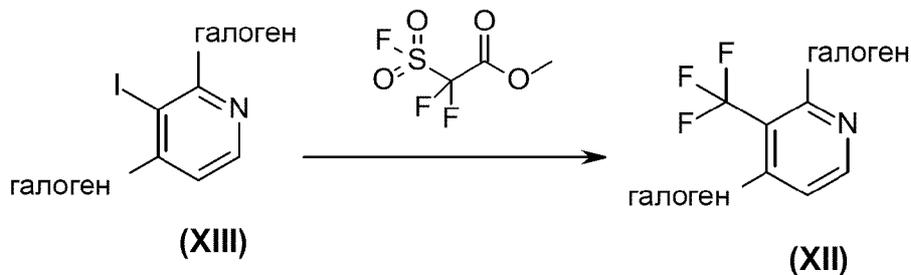
Схема реакции 8



Экспериментальная процедура 9

Промежуточные соединения формулы (XII) можно получить посредством реакции промежуточного соединения формулы (XIII) с подходящим трифторметилирующим средством, таким как, например, сложный метиловый эфир фторсульфонил(дифтор)уксусной кислоты, согласно схеме реакции (9). Эту реакцию проводят в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как, например, *N,N*-диметилформамид, в присутствии подходящего средства для сочетания, такого как, например, йодид меди(I), в таких температурных условиях, как, например, нагревание реакционной смеси, например, при 160°C под действием микроволнового излучения в течение 45 мин. На схеме реакции (9) галоген представляет собой хлор, бром или йод.

Схема реакции 9



Исходные материалы для соединений формул (II), (VII), (X) или (XIII) представляют собой соединения, которые являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии с

традиционными процедурами реакций, общеизвестными для специалистов в данной области.

Используемое в данном документе выражение "**композиция**" предназначено для охвата продукта, содержащего определенные ингредиенты в определенных количествах, а также любого продукта, который получают, прямо или опосредованно, в результате комбинирования определенных ингредиентов в определенных количествах.

Используемое в данном документе выражение "**субъект**" относится к животному, предпочтительно млекопитающему, наиболее предпочтительно взрослому человеку, ребенку или младенцу, которые являются или являлись объектом лечения, обследования или эксперимента.

Используемое в данном документе выражение "**терапевтически эффективное количество**" означает такое количество активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский эффект в системе тканей у животного или человека, который необходим исследователю, ветеринару, врачу или другому клиницисту, что включает облегчение одного или нескольких симптомов заболевания или расстройства, подвергаемых лечению; и/или уменьшение тяжести одного или нескольких симптомов заболевания, подвергаемых лечению.

Комбинация соединений (a) лиганда SV2A и (b) положительного аллостерического модулятора ("PAM") метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа ("mGluR2") или их фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или ортостерического агониста метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, независимо от того, вводят ли соединения (a) и (b) одновременно, отдельно или последовательно, может оказывать более благоприятный эффект по сравнению с эффектом вводимых по отдельности соединений (a) или (b). В частности, может наблюдаться по меньшей мере один благоприятный эффект, например, взаимное усиление эффекта соединений (a) и (b), эффект, превышающий аддитивный, в частности, синергический эффект;

дополнительные преимущественные эффекты включают, например, значительное снижение эффективной дозы для комбинации (a) и (b); дополнительный терапевтический эффект, который не наблюдается для любого из соединений (a) или (b) по отдельности, более благоприятный профиль побочных эффектов, или комбинированный терапевтический эффект при неэффективной дозировке одного из (a) и (b) или как первого, так и второго соединений.

В контексте настоящей заявки выражение **"фиксированное соотношение доз (a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A, и (b) соединения формулы (I), составляющее 1:1, рассчитанное по значениям ED₅₀ для отдельных соединений (a) и (b)"** относится к композициям, содержащим соединения (a) и (b) в дозе, соответствующей 50% относительной дозы ED₅₀ для соединений (a) и (b) по отдельности или величине, кратной такому фиксированному соотношению доз. Выражение **"фиксированное соотношение доз (a) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A: (b) соединения формулы (I), составляющее 3:1, рассчитанное по значениям ED₅₀ для отдельных соединений (a) и (b)"** относится к композициям, содержащим (b) соединение формулы (I) в дозе, соответствующей 75% относительной дозы ED₅₀, и соединение (a) в дозе, соответствующей 25% относительной дозы ED₅₀ для соединения (a), или величине, кратной такому фиксированному соотношению доз, и т.д.

Таким образом, в другом варианте осуществления по настоящему изобретению (a) лиганд SV2A и (b) соединение формулы (I) присутствуют в фармацевтической композиции при фиксированном соотношении доз (a):(b) от приблизительно 1:10 до приблизительно 10:1, предпочтительно от приблизительно 1:5 до приблизительно 5:1, более предпочтительно от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1, в другом варианте осуществления от приблизительно 1:1 до приблизительно 3:1; в альтернативном варианте осуществления 1:3; в еще одном варианте осуществления 1:1; в дополнительном варианте осуществления 3:1; где фиксированное соотношение доз рассчитано по значениям ED₅₀ для отдельных соединений (a) и (b).

При этом настоящее изобретение направлено на комплексную или комбинированную терапию, предусматривающую введение (а) лиганда, представляющего собой белок синаптических везикул 2A ("SV2A"); и (b) ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), которое определено в данном документе, при этом фармацевтически или терапевтически эффективное количество должно означать такое количество комбинации взятых вместе средств, при котором комбинированный эффект вызывает необходимую биологическую или медицинскую реакцию. Например, терапевтически эффективное количество при комплексной терапии, предусматривающую введение (а) лиганда SV2A, который определен в данном документе, и (b) ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), которое определено в данном документе, может быть количеством (а) лиганда SV2A, который определен в данном документе, и количеством (b) ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), которые при совместном или последовательном приеме оказывают комбинированный эффект, который является терапевтически эффективным. Дополнительно, специалист в данной области признает, что в случае комплексной терапии терапевтически эффективным количеством, как в вышеописанном примере, количество ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности, соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), и/или количество подходящего лиганда SV2A отдельно может быть или может не быть терапевтически эффективным.

Настоящее изобретение предлагает способы предупреждения или лечения, предусматривающие назначение нуждающемуся в этом субъекту комплексной терапии терапевтически эффективным количеством лиганда SV2A и терапевтически эффективным количеством ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), которая описана в данном документе. Для достижения данной цели соединения или композиции по настоящему изобретению должны применяться в правильных терапевтически эффективных количестве или дозе, которые описаны ниже.

Оптимальные дозировки и схемы лечения, которые необходимо назначать, могут быть с легкостью определены специалистами в данной области и будут изменяться в зависимости от конкретного применяемого соединения, способа введения, активности препарата и прогрессирования болезненного состояния. Кроме того, факторы, связанные с конкретным пациентом, подвергаемым лечению, в том числе возраст, вес, пищевой рацион и время введения будут обуславливать необходимость в корректировке дозировок.

Специалист в данной области поймет, что терапевтически эффективная дозировка соединений по настоящему изобретению может включать повторные дозы в рамках продленной схемы лечения, которые будут обеспечивать клинически значимые результаты.

Количества РАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), в комбинациях по настоящему изобретению, которые вводят ежесуточно, могут варьировать от приблизительно 0,01 до приблизительно 2000 мг. Примеры ежедневных количеств соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B) составляют 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 750 и 1000 миллиграммов для симптоматического регулирования дозировки для подлежащего лечению пациента. Эффективное количество лекарственного средства, как правило, вводят при уровне дозировки от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 150,0 мг/кг массы тела в сутки или в любом диапазоне в пределах данного диапазона. Предпочтительно диапазон составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 100,0 мг/кг массы тела в сутки, более предпочтительно от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг, более предпочтительно от приблизительно 1,0 до приблизительно 25,0 мг/кг массы тела в сутки. Соединения можно вводить в режиме 1, 2, 3 или 4 раза в сутки. Количества лиганда SV2A, которые вводят ежесуточно, могут варьировать от приблизительно 0,01 до приблизительно 7000 мг, предпочтительно будут составлять от 250 до 5000 мг или более предпочтительно будут составлять от 500 до 3000 мг. Примерами суточного количества лиганда SV2A являются 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1500 и 3000

миллиграммов для симптоматического регулирования дозировки у подлежащего лечению пациента. Эффективное количество лекарственного средства, как правило, вводят при уровне дозировки от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 150,0 мг/кг массы тела в сутки или в любом диапазоне в пределах данного диапазона. Предпочтительно диапазон составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 100,0 мг/кг массы тела в сутки, более предпочтительно от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг, более предпочтительно от приблизительно 1,0 до приблизительно 25,0 мг/кг массы тела в сутки. Соединения можно вводить в режиме 1, 2, 3 или 4 раза в сутки. Все количества, которые упоминаются в данном и следующих абзацах, относятся к свободной форме (т.е. несолевой форме). Приведенные выше значения представляют эквиваленты свободной формы, т.е. величины, соответствующие предполагаемому введению свободной формы. При введении солей количества должны быть рассчитаны в зависимости от соотношения молекулярных масс солевой формы и свободной формы.

Указанные выше суточные дозы рассчитаны для средней массы тела, составляющей приблизительно 70 кг, и должны быть пересчитаны в случае применения в педиатрии или в случае применения у пациентов со значительным отклонением массы тела.

Дозировки могут быть представлены в виде одной, двух, трех или четырех или более частей дозы, вводимых через определенные интервалы в течение суток. Используемая дозировка предпочтительно соответствует суточному количеству PAM mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), или лиганда SV2A, указанного выше, или части его дозы, такой как его 1/2, 1/3, 1/4. Лекарственная форма может содержать PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение (I)/(I-A)/(I-B), или лиганд SV2A, или оба вместе в количестве, равном диапазонам или количествам, упомянутым в предыдущих абзацах, например, лекарственная форма может содержать 10 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг или 200 мг PAM/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения (I)/(I-A)/(I-B), 10 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг или 250 мг лиганда SV2A,

либо в отдельных составах, либо в комбинированных составах. В одном варианте осуществления РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), вводят один раз в сутки (q.d.), в частности в виде одной дозы в сутки, а лиганд SV2A вводят один раз в сутки или два раза в сутки (q.d. или b.i.d.), в частности в виде одной или двух доз в сутки. В случае, когда оба соединения подлежат введению один раз в сутки, это можно осуществить посредством введения двух отдельных доз, одну с РАМ mGluR2/соединением-агонистом mGluR2, в частности с соединением формулы (I)/(I-A)/(I-B), одну с лигандом SV2A, или посредством введения комбинированной дозы, содержащей РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганд SV2A.

Комбинации по настоящему изобретению можно вводить один, два, три, четыре или в случае необходимости много раз в сутки. В одном варианте осуществления комбинацию вводят один раз в сутки. В другом варианте осуществления комбинацию вводят два раза в сутки или три раза в сутки. Введение доз можно осуществлять посредством отдельных лекарственных форм, т.е. посредством лекарственных форм, содержащих только РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), или только лиганд SV2A; или посредством комбинированных лекарственных форм, содержащих активные ингредиенты РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганд SV2A. Также можно использовать сочетание применения комбинированной лекарственной формы и применения отдельных лекарственных форм. Лекарственные формы, которые можно вводить, описаны в дальнейшем в данном документе, при этом лекарственные формы для перорального применения, в частности таблетки или капсулы, являются предпочтительными.

Активные ингредиенты могут быть составлены в фармацевтические композиции либо по отдельности, либо в виде комбинированной фармацевтической композиции. В последнем случае получают фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество РАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B) или его

фармацевтически приемлемой соли, и лиганда SV2A, при этом вышеизложенное является таким, как указано в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции, описанной в данном документе, который предусматривает тщательное перемешивание фармацевтически приемлемого носителя с терапевтически эффективным количеством ПАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B) или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, и терапевтически эффективным количеством по меньшей мере одного лиганда SV2A.

Комбинации, представленные в данном документе, также могут быть составлены в виде комбинированного препарата для одновременного, отдельного или последовательного применения в предупреждении или лечении эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли; биполярных и связанных с ними расстройств; в нейропротекции; или в предупреждении эпилептогенеза. В таком случае ПАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), составляют в фармацевтическую композицию, содержащую другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, а лиганд SV2A составляют отдельно в фармацевтическую композицию, содержащую другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Условно говоря, эти отдельные фармацевтические композиции могут быть частью набора для одновременного, раздельного или последовательного применения.

Отдельные компоненты комбинации по настоящему изобретению можно вводить одновременно или раздельно в разные моменты времени в течение курса терапии или параллельно в разделенных или единых комбинированных формах.

С учетом вышесказанного, ПАМ mGluR2/соединения-агонисты mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганд SV2A, отдельно или в комбинации, могут быть составлены в различные подходящие для введения фармацевтические композиции. В

этих композициях терапевтически эффективное количество конкретного соединения, или обоих соединений, объединяют с фармацевтически приемлемым носителем, причем носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от необходимой для введения формы препарата. Фармацевтические композиции могут быть получены в виде лекарственных препаратов для перорального, парентерального (в том числе подкожного (s.c.), внутримышечного (i.m.) и внутривенного (i.v.)), ректального, трансдермального, трансбуккального или интраназального введения. Также можно получить фармацевтические композиции для введения непосредственно в нервную систему путями, в том числе без ограничений посредством интрацеребрального, интравентрикулярного, интрацеребровентрикулярного, интратекального, интрацистернального, интраспинального и/или периспинального путей с помощью доставки через иглы и/или катетеры для интракраниального или интравертебрального введения с помощью насосных устройств или без них. Подходящие композиции для перорального введения включают порошки, грануляты, агрегаты, таблетки, прессованные или покрытые пиллюли, драже, саше, твердые или желатиновые капсулы, сиропы и суспензии. Подходящие композиции для парентерального введения включают водные или неводные растворы или эмульсии, тогда как подходящие композиции для ректального введения включают суппозитории с гидрофильным или гидрофобным наполнителем. Для местного введения можно использовать подходящие системы трансдермальной доставки, а для назальной доставки можно использовать подходящие аэрозольные системы доставки.

Например, при получении композиций для перорального введения можно использовать любую обычную фармацевтическую среду, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и им подобные, в случае жидких композиций для перорального введения, таких как суспензии, сиропы, эликсиры, эмульсии и растворы; или твердые носители, такие как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и им подобные, в случае твердых композиций. В случае композиций для парентерального введения носитель будет, как правило, содержать

стерильную воду, по меньшей мере в значительной степени, хотя в носитель могут добавляться другие ингредиенты, такие как солюбилизаторы, эмульгаторы или дополнительные вспомогательные средства. Могут быть получены инъекционные растворы, в которых носитель содержит солевой раствор, раствор глюкозы или смесь и первого, и второго. Также можно получать суспензии для инъекций, в случае которых могут использоваться подходящие жидкие носители, суспендирующие средства и им подобные. Также включены препараты в твердой форме, которые предназначены для превращения непосредственно перед применением в препараты в жидкой форме, такие как порошки для растворения. В композициях, подходящих для подкожного введения, носитель необязательно содержит средство, усиливающее проникновение через кожу, и/или смачивающее средство, необязательно объединенное с подходящими совместимыми с кожей добавками в незначительных количествах. Соединение PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), или лиганд SV2A или их комбинации также можно вводить посредством пероральной ингаляции или инсуффляции составов, подходящих для данного типа введения, таких как раствор, суспензия или сухой порошок. Подходящие фармацевтические композиции для введения в форме аэрозолей или спреев представляют собой, например, суспензии PAM mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), или лиганда SV2A, или обоих в фармацевтически приемлемом жидком носителе, таком как этанол или вода или их смесь. При необходимости состав может также дополнительно содержать другие фармацевтические вспомогательные средства, такие как поверхностно-активные вещества, эмульгаторы и стабилизаторы, а также распыляющее вещество. Такой препарат обычно содержит активное соединение в концентрации от примерно 0,1 до 50%, в частности от примерно 0,3% до 3% по весу.

Фармацевтические композиции могут содержать активный ингредиент соединение PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), или лиганд SV2A, или оба в комбинации в концентрации от приблизительно 0,1% до приблизительно 50%, или от приблизительно 1% до приблизительно

30%, или от приблизительно 3% до приблизительно 20%, или от приблизительно 5% до приблизительно 20%, все проценты указаны по весу, причем суммарно все компоненты в указанных фармацевтических композициях не превышают 100%. В композициях, содержащих оба соединения PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганд SV2A, PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), присутствует в концентрации от приблизительно 0,1% до приблизительно 50%, или от приблизительно 1% до приблизительно 30%, или от приблизительно 3% до приблизительно 20%, или от приблизительно 5% до приблизительно 20%; а лиганд SV2A присутствует в концентрации от приблизительно 3% до приблизительно 50%, или от приблизительно 5% до приблизительно 50%, или от приблизительно 10% до приблизительно 50%, или от приблизительно 10% до приблизительно 40%, или от приблизительно 10% до приблизительно 30%, причем суммарно все компоненты в указанных фармацевтических композициях не превышают 100%.

Фармацевтические композиции для удобства могут быть представлены в стандартной лекарственной форме для простоты введения и равномерности дозирования. Примеры включают таблетки (включая таблетки с насечкой или покрытые таблетки), капсулы, пилюли, суппозитории, пакеты с порошком, облатки, инъекционные растворы или суспензии и им подобные, а также их отдельные множества. Интерес представляют твердые лекарственные формы для перорального введения, такие как таблетки или капсулы.

Твердые лекарственные формы в форме стандартной дозы могут быть упакованы в какую-либо известную упаковку, при этом блистерная упаковка является предпочтительной, в частности, для таблеток и капсул. Если PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2, в частности соединение формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганд SV2A составлены отдельно, они могут быть упакованы в отдельные блистеры, но один блистер может также содержать формы стандартной дозы PAM mGluR2/соединения-агониста mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), и лиганда SV2A, например, один ряд с единицами PAM mGluR2/соединения-агониста

mGluR2, в частности соединения формулы (I)/(I-A)/(I-B), а другой с лигандом SV2A. Также могут быть возможны другие варианты.

Комбинации по настоящему изобретению можно применять для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств; невропатической боли; мигрени или устойчивой головной боли и биполярных и связанных с ними расстройств; или их можно применять в качестве нейропротектора или для предупреждения эпилептогенеза.

Подразумевается, что используемое в данном документе выражение "лечение" относится ко всем способам, которые могут предусматривать замедление, нарушение, подавление или прекращение прогрессирования заболевания или облегчение симптомов, но не обязательно означает полное устранение всех симптомов.

В контексте настоящей заявки, если не указано иное, термины **"эпилепсия и связанные с ней расстройства"** или **"эпилепсия или связанное с ней расстройство"** будут означать любое расстройство, при котором субъект (предпочтительно взрослый человек, ребенок или младенец) испытывает один или несколько эпилептических припадков и/или приступов тремора. Подходящие примеры включают без ограничения эпилепсию (в том числе без ограничения локализационно-обусловленные формы эпилепсии, генерализованные формы эпилепсии, формы эпилепсии как с генерализованными, так и с локальными припадками и т.п.), парциальные припадки с генерализацией или без нее, миоклонические припадки, первичные генерализованные тонико-клонические припадки, в особенности у пациентов с идиопатической генерализованной эпилепсией, припадки, ассоциированные с синдромом Леннокса-Гасто, припадки в качестве осложнения заболевания или состояния (как, например, припадки, ассоциированные с энцефалопатией, фенилкетонурией, ювенильной формой болезни Гоше, прогрессирующей миоклонической эпилепсией Лундборга, инсультом, травмой головы, стрессом, гормональными изменениями, употреблением лекарственных средств или отменой лекарственных средств, употреблением алкоголя или отменой алкоголя, лишением сна, лихорадкой, инфекцией и т.п.), эпилептический статус (судорожный или бессудорожный),

эссенциальный тремор, синдром беспокойных конечностей и т.п. Расстройство предпочтительно выбрано из эпилепсии (независимо от типа, первопричины или происхождения), эссенциального тремора или синдрома беспокойных конечностей. Более предпочтительно, расстройство представляет собой эпилепсию (независимо от типа, первопричины или происхождения) или эссенциальный тремор. Конкретным примером эпилепсии является рефрактерная эпилепсия, также называемая эпилепсией, устойчивой к лечению или терапии. Этот термин часто используется, если применение пациентами трех или более противоэпилептических лекарственных средств (АЕД) было безуспешным. Рефрактерная эпилепсия также включает рефрактерную парциальную эпилепсию и рефрактерную генерализованную эпилепсию (в том числе идиопатическую или симптоматическую).

Используемые в данном документе термин "**невропатическая боль**" включает боль в результате хронических или истощающих состояний или расстройств. Хронические или истощающие состояния или расстройства, которые могут привести к невропатической боли, включают без ограничения болевую форму диабетической периферической нейропатии, постгерпетическую невралгию, тригеминальную невралгию, постинсультную боль, боль, ассоциированную с рассеянным склерозом, боль, ассоциированную с невропатиями, такую как при идиопатической или посттравматической невропатии и мононеврите, невропатическую боль, ассоциированную с ВИЧ, невропатическую боль, ассоциированную с раком, невропатическую боль, ассоциированную с каналом запястья, боль, ассоциированную с повреждением спинного мозга, комплексный региональный болевой синдром, невропатическую боль, ассоциированную с фибромиалгией, люмбарную и цервикальную боль, рефлекторную симпатическую дистрофию, синдром фантомной боли и другие болевые синдромы, ассоциированные с хроническими и истощающими состояниями.

Используемый в данном документе термин "**мигрень**" будет означать хроническое, эпизодическое и истощающее клиническое состояние, которое диагностируют по наличию средне-тяжелых пульсирующих односторонних головных болей, продолжающихся от 4 до 72 ч., которое включает мигрень без ауры и мигрень с аурой.

Используемый в данном документе термин "мигрень без ауры" будет указывать по меньшей мере на пять приступов, соответствующих следующим критериям: (а) приступ головной боли продолжается от 4 до 72 часов с головной болью, имеющей по меньшей мере две из следующих особенностей: односторонняя локализация, пульсирующий характер, умеренная или тяжелая интенсивность с непосредственным влиянием на активности в повседневной жизни и ухудшение состояния при подъеме по ступенькам или похожих процедурах; и (b) во время приступа головной боли по меньшей мере возникает следующее: тошнота и/или рвота и боязнь света и фонофобия. Используемый в данном документе термин "мигрень с аурой" будет указывать по меньшей мере на два приступа, сопровождающихся по меньшей мере 3 из 4 следующих особенностей: (а) один или несколько полностью обратимых симптомов ауры; (b) по меньшей мере один симптом ауры, который постепенно развивается на протяжении более четырех минут, или два или более симптомов, которые проявляются последовательно; (с) отсутствие симптома ауры, который продолжается более 60 минут; (d) головная боль появляется до, одновременно с или после ауры, с неопределенным интервалом между аурой и головной болью, составляющим менее приблизительно 60 минут.

Используемый в данном документе термин **"биполярные и связанные с ними расстройства"** будет включать биполярное расстройство I (например, одиночный маниакальный эпизод, недавний гипоманиакальный эпизод, недавний маниакальный эпизод, недавний смешанный эпизод, недавний депрессивный эпизод и недавний неопределенный эпизод), биполярное расстройство II, циклотимическое расстройство и биполярное расстройство без дополнительных уточнений (так как эти термины определены по их диагностическим критериям в Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders 4th Edition, Text Revision, American Psychiatric Association, 2000 (DSM-IV-TR) или в 5th Edition, Text Revision, American Psychiatric Association, 2013 (DSM-5™). Предпочтительно, биполярное расстройство характеризуется депрессивной и маниакальной (или гипоманиакальной) фазами, причем фазы являются циклическими. Предпочтительно, биполярное

расстройство представляет собой биполярное расстройство I или биполярное расстройство II. Используемый в данном документе термин "мания" будет включать манию или фазу маниакальной склонности, не считая первопричину. Подразумевают, что используемый в данном документе термин "биполярная мания" означает манию, ассоциированную с биполярным расстройством, характерную для него или являющуюся его симптомом. Таким образом, способы лечения биполярной мании по настоящему изобретению направлены на способы, с помощью которых лечат манию и/или маниакальную фазу биполярных расстройств. Подразумевают, что используемый в данном документе термин "биполярная депрессия" означает депрессию, ассоциированную с биполярным расстройством, характерную для него или являющуюся его симптомом. Таким образом, способы лечения биполярной депрессии по настоящему изобретению направлены на способы, с помощью которых лечат депрессию и/или депрессивную фазу биполярных расстройств. В контексте данного документа, если не указано иное, термины "периодичность" или "биполярная периодичность" будут относиться к изменению настроения от депрессивной до маниакальной фаз, характерных для биполярных расстройств. Таким образом, настоящее изобретение включает способы стабилизации указанной цикличности, предусматривающие без ограничения уменьшение частоты периодичности и/или уменьшения интенсивности маниакальных и/или депрессивных фаз.

Таким образом, в одном варианте осуществления фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно использовать для стабилизации настроения, в частности стабилизации настроения при маниакальной депрессии.

Используемый в данном документе термин "**эпилептогенез**" относится к постепенному процессу развития эпилепсии. Данный процесс может возникать после кровоизлияний в мозг или ряда состояний, включая нейродегенеративные заболевания, травматическое повреждение головного мозга, инсульт, опухоль головного мозга, инфекции центральной нервной системы и эпилептический статус, или он может возникнуть после генных мутаций.

Используемое в данном документе выражение "**тревожность**" относится, в частности, к генерализированному тревожному расстройству.

Используемое в данном документе выражение "**приблизительно**" имеет свое общепринятое значение. В конкретных вариантах осуществления, находясь в связи с числовым значением, оно может быть интерпретировано как числовое значение $\pm 10\%$, или $\pm 5\%$, или $\pm 2\%$, или $\pm 1\%$, или $\pm 0,5\%$, или $\pm 0,1\%$. В других вариантах осуществления подразумевают точное значение, т.е. опуская слово "приблизительно".

"И/или" означает, что каждый компонент или оба или все компоненты или характеристики из перечня являются возможными вариантами, особенно два или более из них, в виде альтернативы или совместно.

Используемые в данном документе формы "**единственного числа**", "**множественного числа**" и сходные термины, используемые в контексте настоящего изобретения (особенно в контексте формулы изобретения), следует трактовать как охватывающие как формы единственного, так и формы множественного числа, если в данном документе не указано иное или это очевидно не опровергается контекстом.

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры изложены с целью содействия пониманию настоящего изобретения и не подразумеваются и не должны быть истолкованы как каким-либо образом ограничивающие настоящее изобретение, изложенное в формуле изобретения, которая приведена далее.

А) СОЕДИНЕНИЯ ФОРМУЛЫ (I-B) – ХИМИЯ И ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO*

Некоторые способы получения соединений формулы (I-B) по настоящему изобретению проиллюстрированы в следующих примерах. Если не указано иное, все исходные материалы получали от частных поставщиков и их использовали без дополнительной очистки.

Далее в данном документе "водн." означает водный; "DCE" означает 1,2-дихлорэтан, "DCM" означает дихлорметан; "DIPE" означает простой диизопропиловый эфир; "DIPEA" означает N,N-

диизопропилэтиламин; "DMF" означает *N,N*-диметилформамид; "ES" означает электрораспыление; "Et₃N" означает триэтиламин; "Et₂O" означает диэтиловый эфир; "EtOAc" означает этилацетат; "ч." означает часы; "HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию; "HRMS" означает масс-спектрометрию высокого разрешения/спектрометрию; "л" или "Л" означает литр; "LRMS" означает спектрометрию низкого разрешения/масс-спектры; "MeOH" означает метанол; "мин." означает минуту (минуты); "т.пл." означает температуру плавления; "Pd(PPh₃)₄" означает тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0); "RP" означает обращенно-фазовый; "к.т." означает комнатную температуру; "с" означает секунды; "насыщ." означает насыщенный; "SFC" означает сверхкритическую жидкостную хроматографию; "раств." означает раствор; "THF" означает тетрагидрофуран.

Реакции с помощью микроволнового излучения проводили в одномодовом реакторе: микроволновой реактор Initiator™ Sixty EXP (Biotage AB), или в мультимодовом реакторе: MicroSYNTH Labstation (Milestone, Inc.).

Тонкослойную хроматографию (TLC) проводили на пластинах со слоем силикагеля 60 F254 (Merck) с использованием растворителей с высокой степенью чистоты. Капиллярную хроматографию осуществляли на силикагеле с размером частиц 60 Å, 230–400 меш (Merck) с применением стандартных методик. Автоматизированную колоночную флэш-хроматографию проводили с использованием готовых к подсоединению картриджей от Merck на силикагеле с частицами неправильной формы, размер которых составлял 15–40 мкм (одноразовые колонки для флэш-хроматографии с нормальными фазами) в системе SPOT или LAFLASH от Armen Instrument.

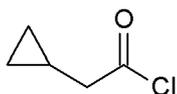
Абсолютную стереохимическую конфигурацию для некоторых соединений определяли с помощью вибрационного кругового дихроизма (VCD). Их измеряли на Bruker Equinox 55, оснащенный PMA 37, в жидкостной кювете с окном из KBr с использованием CD₂Cl₂ в качестве растворителя (PEM: 1350 см⁻¹, LIA: 1 мВ, разрешение: 4 см⁻¹). Описание применения VCD для определения абсолютной конфигурации можно найти в Dyatkin A.B. et. al,

Chirality, 14:215-219 (2002).

Во всех случаях указания в данном документе обозначения "RS", оно означает, что соединение представляет собой рацемическую смесь, если не указано иное. Стереохимическую конфигурацию для ряда соединений обозначали как "R" или "S", если смесь была разделена; для некоторых соединений стереохимическую конфигурацию обозначали как "*R" или "*S", если абсолютная стереохимическая конфигурация не определена, хотя само соединение было выделено в качестве отдельного стереоизомера и является энантимерно чистым. Энантиомерный избыток соединений, описанных в данном документе, определяли с помощью анализа рацемической смеси посредством сверхкритической жидкостной хроматографии (SFC) с последующим сравнением разделенных энантиомеров в ходе SFC.

Получение промежуточных соединений

Описание 1 - промежуточное соединение 1



Циклопропилуксусную кислоту ([CAS 5239-82-7], 50 г, 500 ммоль) растворяли в CH_2Cl_2 (300 мл), а затем добавляли SOCl_2 (100 мл). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч., а затем растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения 1 (53 г, 90%), которое использовали без дополнительной очистки.

Описание 2 - промежуточное соединение 2

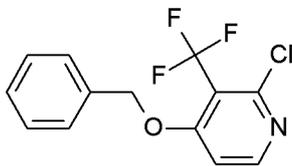


В раствор 2,4-дихлор-3-йодпиридина ([CAS 343781-36-2], 290 г, 1058 ммоль) в DMF (1,7 л) добавляли метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфонил)ацетат ([CAS 680-15-9], 403 г, 2098 ммоль) и CuI (403 г, 2,13 моля), а затем реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 5 ч.

Реакционную смесь охлаждали и фильтровали. Фильтрат разбавляли с помощью H_2O , и экстрагировали с помощью Et_2O , и

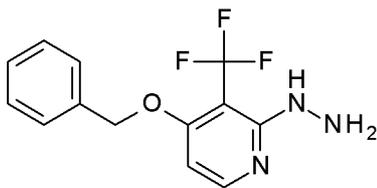
промывали раствором NH_3 . Органический слой высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения **2** (160 г), которое использовали без дополнительной очистки.

Описание 3 - промежуточное соединение 3



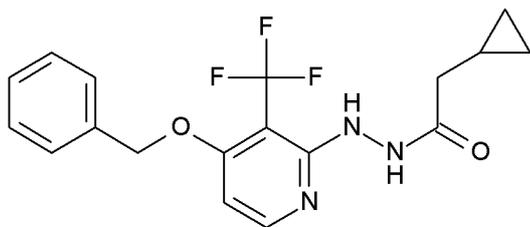
В раствор NaN (60% в масле, 24 г, 600 ммоль) в DMF (2 л) при 0°C добавляли бензиловый спирт (35 г, 325 ммоль), а затем реакционную смесь перемешивали в течение 2 мин. Промежуточное соединение **2** (160 мг, 741 ммоль) добавляли одной порцией и перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли путем добавления H_2O и экстрагировали с помощью Et_2O . Органический слой высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: петролейный эфир/ EtOAc =20/1). Очищенные фракции собирали и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения **3** (100 г, 38%).

Описание 4 - промежуточное соединение 4



В раствор промежуточного соединения **3** (100 г, 277 ммоль) в 1,4-диоксане (1,5 л) добавляли гидрат NH_2NH_2 (85% раствор в воде, 300 г, 9,11 моля), а затем реакционную смесь нагревали в запаянной пробирке при 160°C в течение 2 ч. Смесь концентрировали *in vacuo*, растворяли в DCM, промывали с помощью NaHCO_3 . Органический слой высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения **4** (90 г, 90%), которое использовали без дополнительной очистки.

Описание 5 - промежуточное соединение 5



В раствор промежуточного соединения **4** (90 г, 318 ммоль) в CH_2Cl_2 (1,5 л) добавляли триэтиламин (64,3 г, 636 ммоль), смесь охлаждали до 0°C , а затем добавляли раствор промежуточного соединения **1** (53 г, 449 ммоль) в CH_2Cl_2 . Раствор перемешивали при RT в течение 1 ч. Реакционную смесь промывали насыщ. водн. раств. NaHCO_3 и экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 . Органический слой высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения **5** (104,4 г, 90%).

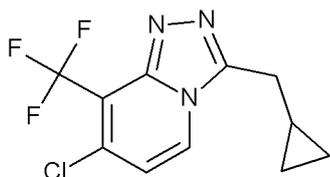
Приведенные далее промежуточные соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в описании 5 (D5).

Промежуточное соединение	Хлорангидрид	Условия
<p>Промежуточное соединение 6</p>	<p>Пропионилхлорид ([CAS 79-03-8])</p>	<p>Дополнительный цикл при RT.</p>
<p>Промежуточное соединение 7</p>	<p>Циклобутанацетилхлорид ([CAS 59543-38-3])</p>	<p>Условия аналогичны D5.</p>
<p>Промежуточное соединение 8</p>	<p>2-этоксацетилхлорид ([CAS 14077-58-8])</p>	<p>Условия аналогичны D5.</p>

 <p>Промежуточное соединение 25</p>	<p>Бутирилхлорид ([CAS 141-75-3])</p>	<p>Условия аналогичны D5.</p>
--	---	-----------------------------------

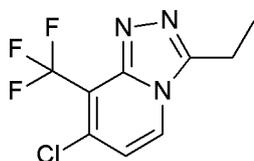
Описание 6

(a) Промежуточное соединение 9



В раствор промежуточного соединения **5** (101 г, 277 ммоль) в CH_3CN (1,2 л) добавляли оксихлорид фосфора(V) (84,7 г, 553 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (71,3 г, 553 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 38 ч. Реакционную смесь затем разбавляли с помощью DCM и промывали раствором Na_2CO_3 . Органический слой высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элжент: петролейный эфир/ EtOAc =4/1). Очищенные фракции собирали и растворитель выпаривали с получением промежуточного соединения **9** (31,39 г, 41%).

(b) Промежуточное соединение 10

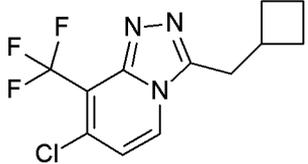
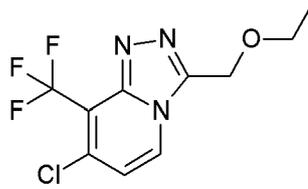
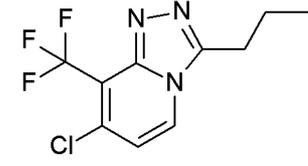


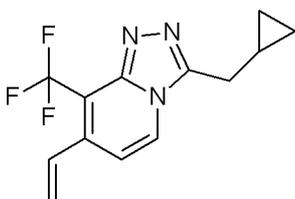
Реакцию проводили в 4 партиях, которые затем объединяли для выделения и очистки.

К раствору промежуточного соединения **6** (7 г, 20,6 ммоль) в DCE (50 мл) добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (3,96 мл, 22,69 ммоль), а затем оксихлорид фосфора (2,12 мл, 22,69 ммоль), и реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при 150°C в течение 5 мин. Затем добавляли DCM, и органический слой промывали насыщ. раств. NaHCO_3 , высушивали (Na_2SO_4) и

концентрировали *in vacuo* с получением требуемого соединения, которое очищали с помощью колоночной хроматографии (градиентное элюирование: от 100% DCM до 2% MeOH.NH₃ в DCM) с получением промежуточного соединения **10** (2,5 г, 49%).

Следующие промежуточные соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в описании 6(a) или (b).

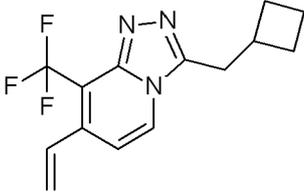
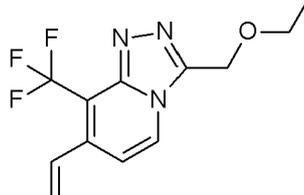
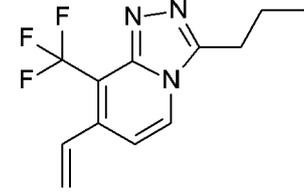
Промежуточное соединение	Исходный материал	Условия
 <p data-bbox="268 1037 520 1122">Промежуточное соединение 11</p>	Промежуточное соединение 7	<p data-bbox="922 645 1417 730">Реакцию проводили так же, как в (a), но в CH₃CN.</p> <p data-bbox="922 752 1417 1323">После завершения реакции реакцию смесь выливали в воду со льдом, а затем промывали насыщ. раств. NaHCO₃ и экстрагировали с помощью DCM, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Очистку проводили в Spot (картридж с Si, элюент DCM/EtOAc до 10-20%).</p>
 <p data-bbox="268 1568 520 1653">Промежуточное соединение 12</p>	Промежуточное соединение 8	<p data-bbox="922 1355 1417 1653">Реакцию проводили так же, как в (b). Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; EtOAc в DCM от 0/100 до 40/60).</p>
 <p data-bbox="268 1890 520 1975">Промежуточное соединение 26</p>	Промежуточное соединение 25	<p data-bbox="922 1684 1417 1982">Реакцию проводили так же, как в (a). Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в CH₂Cl₂, от 0/100 до 4/96).</p>



В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **9** (10 г, 36,28 ммоль) и 4,4,5,5-тетраметил-2-винил-1,3,2-диоксборолана ([CAS 75927-49-0], 7,77 мл, 43,53 ммоль) в деоксигенированном диоксане (30 мл) и деоксигенированном насыщенном растворе NaHCO_3 (30 мл) в атмосфере азота добавляли $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (2,096 г, 1,81 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 18 ч. Смесь разбавляли смесью EtOAc /вода и фильтровали через прокладку из диатомитовой земли. Фильтрат обрабатывали солевым раствором и экстрагировали с помощью EtOAc . Органический слой отделяли, высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и растворители выпаривали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; EtOAc в CH_2Cl_2 от 0/100 до 5/95). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения **13** (6,08, 63%) в виде желтого твердого вещества.

Следующие промежуточные соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в описании 7.

Промежуточное соединение	Исходный материал	Условия
<p>Промежуточное соединение 14</p>	Промежуточное соединение 10	Реакцию проводили при 150°C . Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; 7 н. раствор аммиака в метаноле в DCM от 0/100 до 1/9).

 <p>Промежуточное соединение 15</p>	<p>Промежуточное соединение 11</p>	<p>Экстракция с помощью DCM, очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM 4/96).</p>
 <p>Промежуточное соединение 16</p>	<p>Промежуточное соединение 12</p>	<p>Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; EtOAc в DCM от 0/100 до 10/90).</p>
 <p>Промежуточное соединение 27</p>	<p>Промежуточное соединение 26</p>	<p>С реакционной смесью проводили действия при 150°C в микроволновом реакторе. Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; EtOAc в DCM от 0/100 до 10/90).</p>

Описание 8

(a) Промежуточное соединение 17

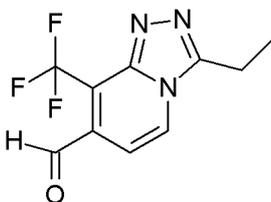


К суспензии промежуточного соединения **13** (6,08 г, 20,02 ммоль) в диоксане (192 мл) добавляли тетраоксид осмия (2,5% в трет-БуОН, 10,103 мл, 0,781 ммоль), а затем периодат натрия (12,53 г, 58,58 ммоль) в воде (48,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч.

Смесь обрабатывали водой и EtOAc и отфильтровывали ее через

прокладку из диатомитовой земли. Фильтрат экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и растворители выпаривали *in vacuo*. Неочищенный продукт промывали с помощью Et_2O и его фильтровали и высушивали с получением промежуточного соединения **17** (4,25 г, 79%) в виде коричневого твердого вещества.

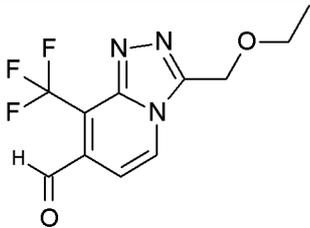
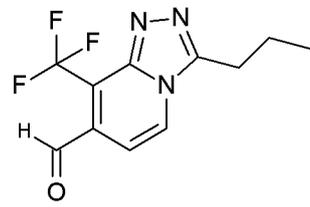
(b) Промежуточное соединение 18



В перемешиваемый раствор тетраоксида осмия (2,5% в трет-БуОН, 4,06 мл, 0,31 ммоль) и промежуточного соединения **14** (2,08 г, 7,85 ммоль) в диоксане (75 мл) добавляли суспензию периодата натрия (5,04 г, 23,54 ммоль) в дистиллированной воде (19 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 150 мин., а затем смесь обрабатывали насыщ. NaHCO_3 и соевым раствором и экстрагировали с помощью DCM. Органический слой отделяли, высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Продукт растирали в порошок с Et_2O и фильтровали *in vacuo*, и в завершении помещали в сушильный шкаф при 50°C на 18 ч. с получением промежуточного соединения **18** (1,6 г, 80%) в виде коричневого твердого вещества.

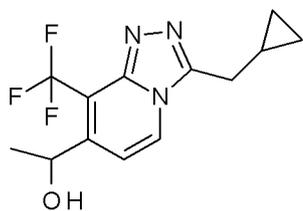
Следующие промежуточные соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в описании 8.

Промежуточное соединение	Исходный материал	Условия
 Промежуточное соединение 19	Промежуточное соединение 15	Такая же процедура, как в (a).

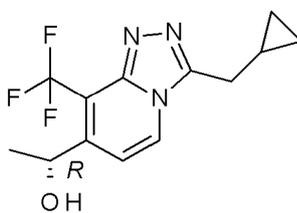
 <p>Промежуточное соединение 20</p>	<p>Промежуточное соединение 16</p>	<p>Такая же процедура, как в (а).</p>
 <p>Промежуточное соединение 28</p>	<p>Промежуточное соединение 27</p>	<p>Такая же процедура, как в (а), порядок добавления: тетраоксид осмия добавляли в перемешиваемый раствор промежуточного соединения 27 в 1,4- диоксане, затем добавляли суспензию периодата натрия в воде и реакцию смесь перемешивали в течение 2 ч. при к.т. Фильтрацию через прокладку из диатомитовой земли не проводили.</p>

Описание 9

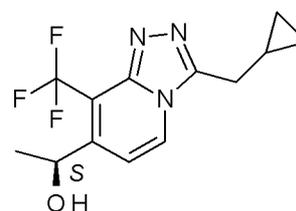
(а) Промежуточные соединения 21a, 21b и 21c



Промежуточное
соединение 21a



Промежуточное
соединение 21b

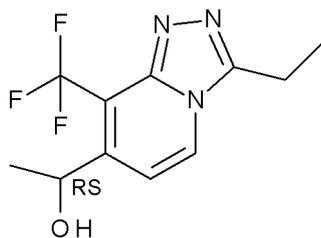


Промежуточное
соединение 21c

В перемешиваемую суспензию промежуточного соединения 17 (4,25 г, 15,79 ммоль) в THF (281,07 мл) при -20°C в атмосфере N_2 по каплям добавляли бромид метилмагния (1,4 М в THF, 12,40 мл,

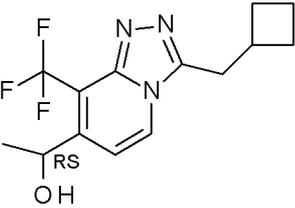
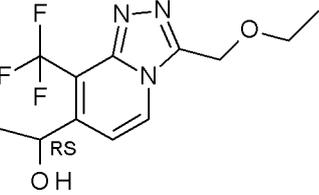
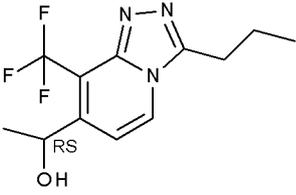
17,37 ммоль). Смесь перемешивали при -20°C в течение 45 минут. Неочищенный продукт обрабатывали насыщ. раств. NH_4Cl и экстрагировали с помощью EtOAc . Органический слой отделяли, высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 4/96). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения **21a** (рацемическая смесь) (2,96 г, 66%). Промежуточное соединение **21a** (1,82 г) очищали с помощью хиральной SFC [неподвижная фаза: CHIRALPAK AD-H (5 мкм, 250 x 20 мм), подвижная фаза: 80% CO_2 , 20% EtOH] с получением **21b** (*R*-энантиомера) (0,453 г, 10%) в виде бледно-серого твердого вещества и промежуточного соединения **21c** (*S*-энантиомера) (0,439 г, 10%).

(b) Промежуточное соединение 22

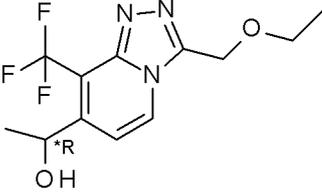
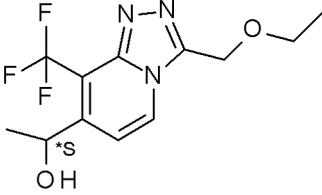


В перемешиваемую суспензию промежуточного соединения **18** (1,23 г, 5,06 ммоль) в THF (90 мл) при -20°C в атмосфере N_2 по каплям добавляли бромид метилмагния (1,4 М в THF , 3,97 мл, 5,56 ммоль). Смесь перемешивали при -20°C в течение 45 минут. Неочищенный продукт обрабатывали насыщ. раств. NH_4Cl и экстрагировали с помощью EtOAc . Органический слой отделяли, высушивали (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 4/96). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Остаток, полученный таким образом, растирали в порошок с Et_2O с получением промежуточного соединения **22** (620 мг, 35%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Следующие промежуточные соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в описании 9.

Промежуточное соединение	Исходный материал	Условия
 <p>Промежуточное соединение 23</p>	Промежуточное соединение 19	Процедура (b).
 <p>Промежуточное соединение 24a</p>	Промежуточное соединение 20	Процедура (b).
 <p>Промежуточное соединение 29</p>	Промежуточное соединение 28	Процедура (b).

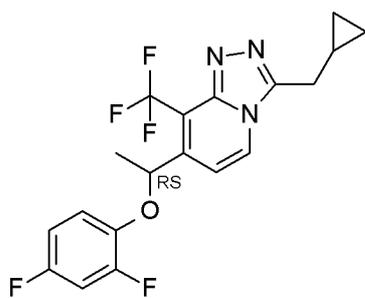
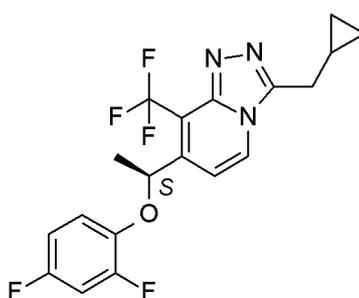
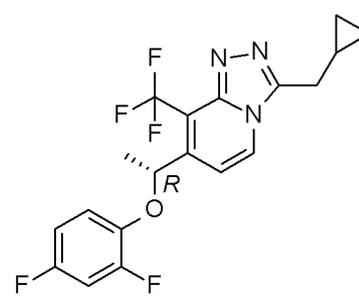
Промежуточное соединение **24a** дополнительно разделяли на промежуточное соединение **24b** и промежуточное соединение **24c**:

 <p>Промежуточное соединение 24b</p>	 <p>Промежуточное соединение 24c</p>
<p>Условия хиральной SFC: неподвижная фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250*30 мм; подвижная фаза: 80% CO₂, 15% EtOH.</p>	

Получение конечных соединений формулы (I-B)

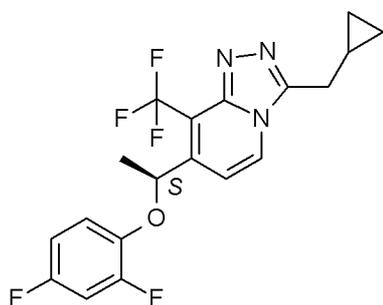
Пример 1

(a) Синтез соединений 4-b, 6-b и 5-b

Соединение 4-**b**Соединение 6-**b**Соединение 5-**b**

В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **21a** (2 г, 7,01 ммоль), 2,4-дифторфенола (1,00 мл, 10,52 ммоль) и трифенилфосфина (2,76 г, 10,52 ммоль) в THF (74,18 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD (2,07 мл, 10,52 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 10 минут под действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 97/3). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Остаток растирали в порошок с DIPE с получением соединения **4-b** (1,46 г, 52%) в виде белого твердого вещества, которое очищали с помощью хиральной SFC [неподвижная фаза: Chiralpak AD (5 мкм, 250*30 мм, подвижная фаза: 85% CO₂, 15% iPrOH)] с получением соединения **6-b** (0,659 г, 24%) и соединения **5-b** (0,693 г, 25%).

(b) Альтернативный синтез соединения 6-**b**

Соед. № 6-**b**

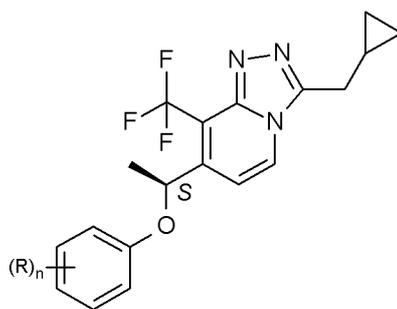
В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **21b** (30 мг, 0,11 ммоль), 2,4-дифторфенола (15,07 мкл, 0,16 ммоль) и трифенилфосфина (41,38 мг, 0,16 ммоль) в THF (1,11 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD (31,06 мкл, 0,16 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 10 минут под

действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 97/3). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Остаток растирали в порошок с DIPE с получением соединения **6-b** (40 мг, 96%) в виде белого твердого вещества.

(с) Синтез хлористоводородной соли (.HCl) соединения 6-b

В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **21b** (200 мг, 0,70 ммоль), 2,4-дифторфенола (100,45 мкл, 1,05 ммоль) и трифенилфосфина (275,84 мг, 1,0516 ммоль) в THF (4 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD (207,06 мкл, 1,05 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 15 минут под действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью RP HPLC (неподвижная фаза: C18 XBridge, 30×100 мм, 5 мкм, подвижная фаза: градиент от 60% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH при pH 9 в воде, 40% CH₃CN до 43% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH при pH 9 в воде, 57% CH₃CN) с получением белого твердого остатка, который растворяли в Et₂O (8 мл) и 1,4-диоксане (0,5 мл). К полученному таким образом раствору по каплям добавляли HCl (4 М в диоксане, 200 мкл). Белый твердый осадок фильтровали, промывали с помощью Et₂O, высушивали (Na₂SO₄) и выпаривали под воздействием вакуума. Полученный таким образом белый остаток растирали в порошок с Et₂O с получением .HCl соединения **6-b** (110 мг, 36%) в виде белого твердого вещества.

Следующие соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной описанной в примере 1 (b), начиная с промежуточного соединения **21b**.

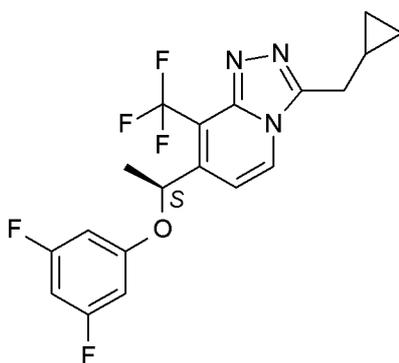


Соед. №	
9-b	
10-b	
11-b	

Соед. №	
12-b	
13-b	
14-b	

Пример 2

Синтез соединения 7-b



Соед. № 7-b

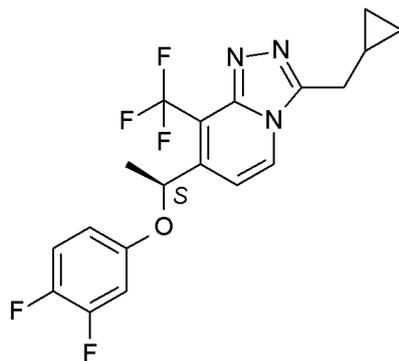
Процедура (а). В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **21b** (30 мг, 0,105 ммоль), 3,5-дифторфенола (20,52 мг, 0,158 ммоль) и трифенилфосфина (41,38 мг, 0,158 ммоль) в THF (1,113 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD

(31,06 мкл, 0,158 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 10 минут под действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 96/4). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Остаток растирали в порошок с DIPE с получением соединения **7-b** (21 мг, 50%) в виде белого твердого вещества.

Процедура (b). Альтернативно, соединение **7** также синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной приведенной в примере 1(b), начиная с промежуточного соединения **21b**.

Пример 3

Синтез соединения **8-b**



Соед. № **8-b**

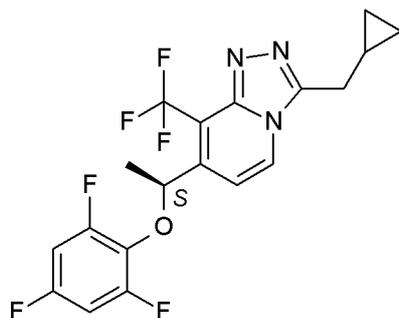
Процедура (a). К перемешиваемому раствору промежуточного соединения **21b** (30 мг, 0,105 ммоль), 3,4-дифторфенола (20,52 мг, 0,158 ммоль) и трифенилфосфина (41,38 мг, 0,158 ммоль) в THF (1,11 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD (31,06 мкл, 0,158 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 10 минут под действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 96/4). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Остаток растирали в порошок с DIPE с получением соединения **8-b** (10,6 мг,

25%) в виде белого твердого вещества.

Процедура (b). Альтернативно, соединение **8-b** также синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в примере 1(b), начиная с промежуточного соединения **21b**.

Пример 4

Синтез соединения 15-b



Соед. № **15-b**

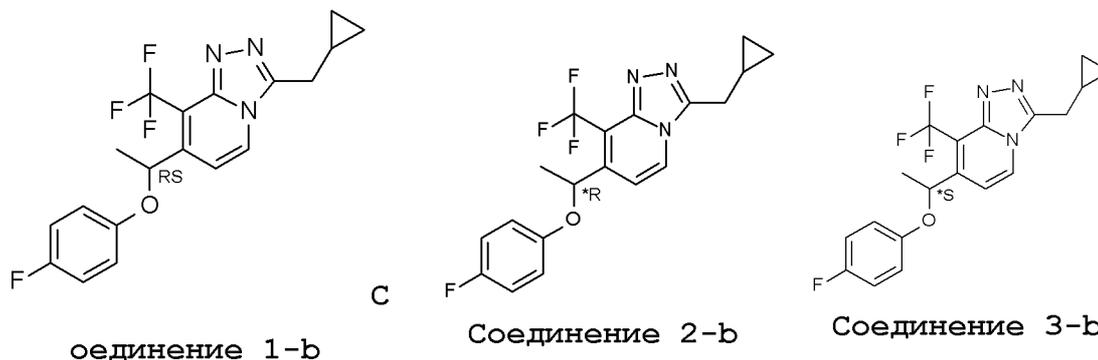
Процедура (a). В перемешиваемый раствор промежуточного соединения **21b** (150 мг, 0,526 ммоль), 2,4,6-трифторфенола (116,8 мг, 0,789 ммоль) и трифенилфосфина (206,88 мг, 0,789 ммоль) в THF (5,56 мл) при 0°C и в атмосфере азота по каплям добавляли DIAD (155,3 мкл, 0,789 ммоль). Смесь перемешивали при 100°C в течение 10 минут под действием микроволнового излучения. Смесь разбавляли с помощью DCM и промывали насыщ. раств. NaHCO₃. Органический слой отделяли, высушивали (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo*, затем очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH/NH₃ 7 н. в DCM от 0/100 до 90/10). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Очищали с помощью RP HPLC (неподвижная фаза: C18 XBridge, 30×100 мм, 5 мкм, подвижная фаза: градиент от 54% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH при pH 9 в воде, 46% CH₃CN до 64% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH при pH 9 в воде, 36% CH₃CN) с получением бесцветного масла, кристаллизовавшегося при отстаивании (2 суток). Твердое вещество растирали в порошок с гептаном с получением соединения **15-b** (129,8 мг, 59%) в виде белого твердого вещества.

Процедура (b). Альтернативно, соединение **15-b** также синтезировали согласно последовательности синтеза, аналогичной изложенной в примере 1(b), начиная с промежуточного соединения

21b.

Пример 5

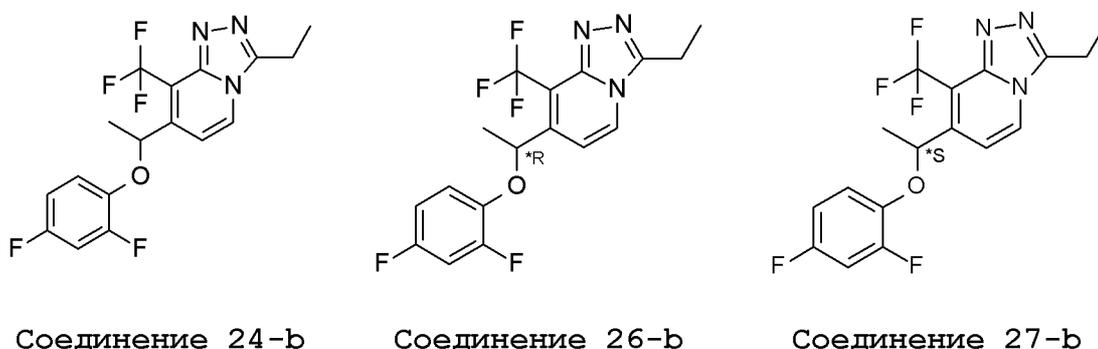
Синтез соединений 1-b, 2-b и 3-b



Соединения **1-b**, **2-b** и **3-b** синтезировали согласно процедуре, изложенной в примере 1(a). Таким образом, в результате реакции DIAD (500,05 мкл, 2,54 ммоль), промежуточного соединения **21a** (483 мг, 1,69 ммоль), 4-фторфенола (227,77 мг, 2,03 ммоль) и трифенилфосфина (666,14 мг, 2,54 ммоль) в THF (17,91 мл), описанной в примере 1(a), получали остаток, который очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; EtOAc в DCM от 0/100 до 90/10). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток растирали в порошок с DIPE с получением соединения **1-b** (320 мг, 50%) в виде белого твердого вещества, которое очищали с помощью хиральной SFC [неподвижная фаза: Chiralpak AD (5 мкм, 250*30 мм, подвижная фаза: 77% CO₂, 23% MeOH)] с получением соединения **2-b** (131 мг, 20%) и соединения **3-b** (129 мг, 20%) в виде белых твердых веществ.

Пример 6

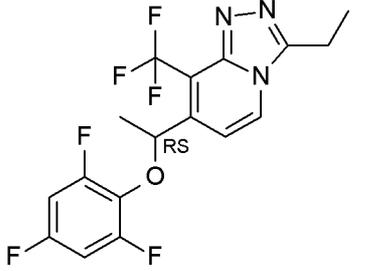
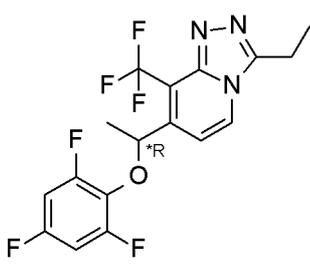
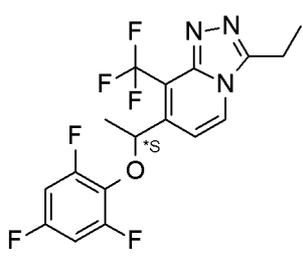
Синтез соединений 24-b, 26-b и 27-b

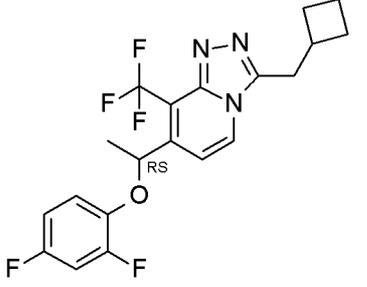
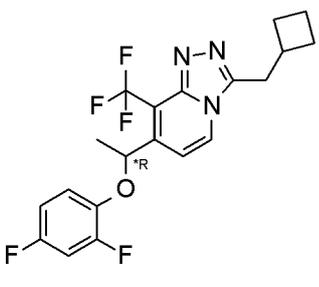
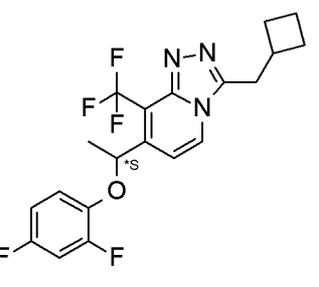


Соединения **24-b**, **26-b** и **27-b** синтезировали согласно процедуре, описанной в примере 1(a). Таким образом, в результате

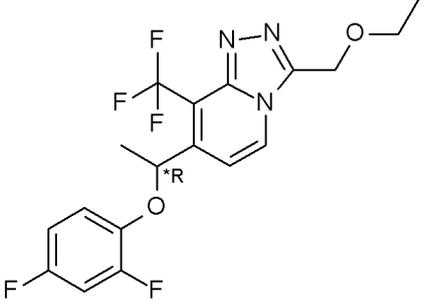
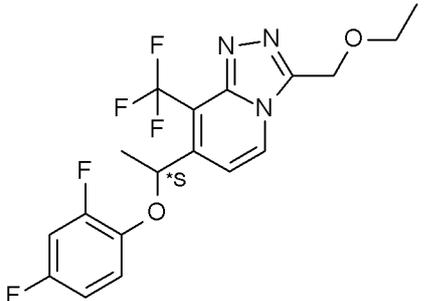
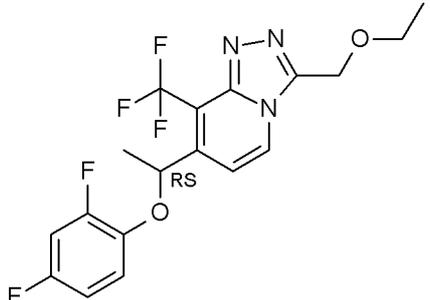
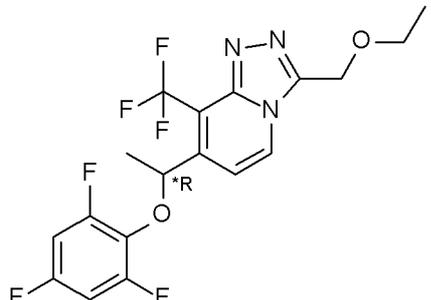
реакции DIAD (364,57 мкл, 1,85 ммоль), промежуточного соединения **22** (320 мг, 1,23 ммоль), 2,4-дифторфенола (176,86 мкл, 1,85 ммоль) и трифенилфосфина (485,67 мг, 1,85 ммоль) в THF (13,06 мл), описанной в примере 1(a), получали остаток, который очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель; MeOH в DCM от 0/100 до 96/4). Требуемые фракции собирали и концентрировали *in vacuo* с получением бесцветного масла, кристаллизующегося при использовании DIPE с получением соединения **24** в виде белого твердого вещества, которое очищали с помощью RP HPLC (неподвижная фаза: C18 XBridge, 30×100 мм, 5 мкм; подвижная фаза: градиент от 54% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH с pH 9 в воде, 46% CH₃CN до 64% 0,1% раствора NH₄CO₃H/NH₄OH при pH 9 в воде, 36% CH₃CN) с получением бесцветного масла, кристаллизовавшегося при растирании в порошок с гептаном с получением 240 мг (52%) соединения **24-b** в виде белого твердого вещества, которое затем очищали с помощью хиральной SFC (неподвижная фаза: CHIRALPAK AD-H, 5 мкм, 250 x 20 мм; подвижная фаза: 85% CO₂, 15% iPrOH (0,3% iPrNH₂)) с получением соединения **26-b** (103 мг, 22%) и соединения **27-b** (107 мг, 23%).

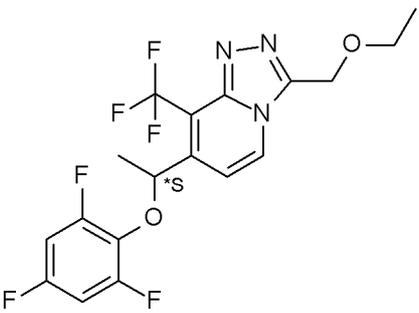
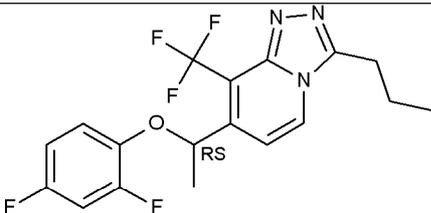
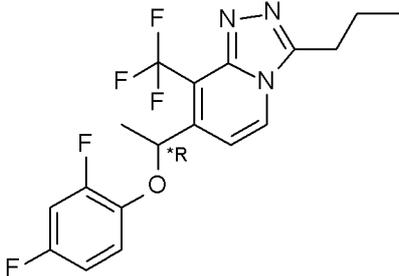
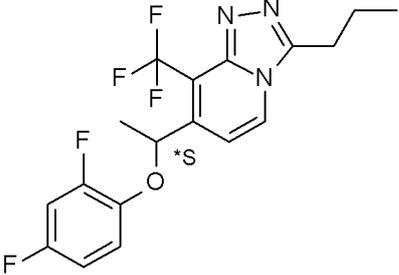
Следующие соединения получали согласно последовательности синтеза, сходной с изложенной в примере 1(a).

 <p style="text-align: center;">Соединение 25-b</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 28-b</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 29-b</p>
<p>Исходный материал: Промежуточное соединение 22 Условия хиральной SFC: неподвижная фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250×20 мм; подвижная фаза: 85% CO₂, 15% смесь EtOH/iPrOH, 50/50 об./об. (+0,3% iPrNH₂)</p>		

 <p style="text-align: center;">Соединение 16-b</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 17-b</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 18-b</p>
<p>Исходный материал: Промежуточное соединение 23</p> <p>Условия хиральной SFC: неподвижная фаза: Chiralpak AD-H (5 мкм, 250*30 мм); подвижная фаза: 80% CO₂, 20% смесь MeOH/iPrOH, 50/50 об./об. (+0,3% iPrNH₂)</p>		

Следующие соединения синтезировали согласно последовательности синтеза, которая изложена в примере 1(b), начиная с указанных промежуточных соединений.

 <p style="text-align: center;">Соединение 20-b; получали из промежуточного соединения 24c</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 21-b; получали из промежуточного соединения 24b</p>
 <p style="text-align: center;">Соединение 19-b; получали из промежуточного соединения 24a</p>	 <p style="text-align: center;">Соединение 22-b; получали из промежуточного соединения 24c</p>

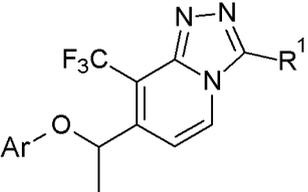
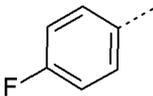
 <p>Соединение 23-b; получали из промежуточного соединения 24b</p>	 <p>Соединение 30-b; получали из промежуточного соединения 29</p>
 <p>Соединение 31-b;</p>	 <p>Соединение 32-b;</p>
<p>Исходный материал: Промежуточное соединение 30 Условия хиральной SFC: неподвижная фаза: Chiralpak AD-H, 5 мкм, 250×20 мм; подвижная фаза: 85% CO₂, 15% iPrOH.</p>	

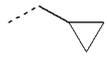
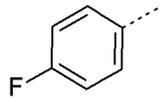
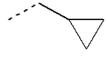
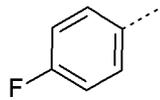
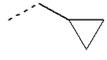
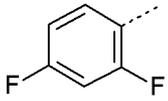
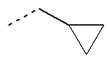
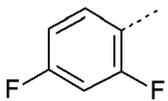
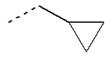
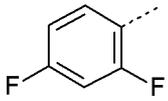
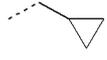
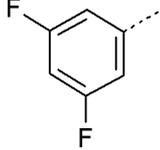
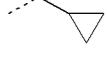
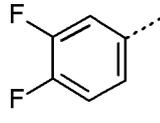
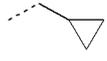
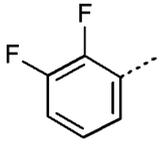
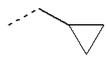
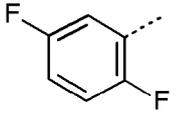
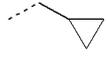
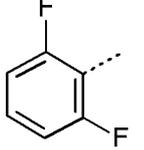
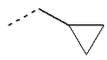
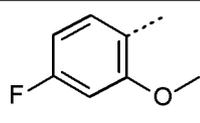
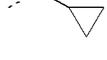
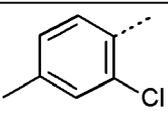
В таблице А ниже перечислены дополнительные соединения формулы (I-V), которые получали по аналогии с вышеприведенными примерами (№ эксп.).

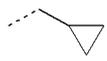
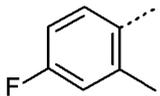
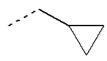
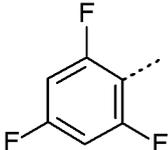
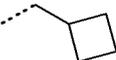
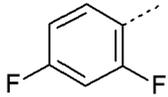
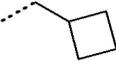
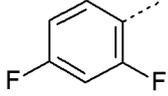
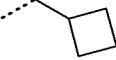
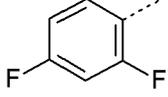
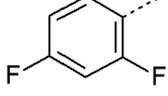
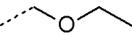
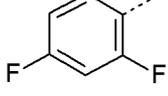
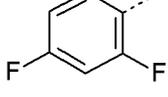
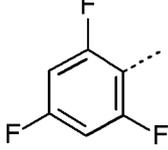
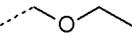
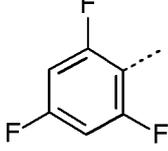
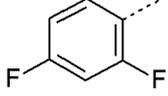
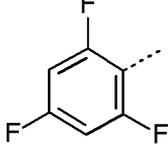
Таблица А

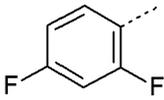
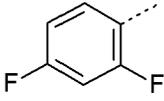
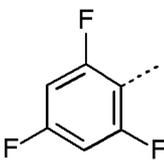
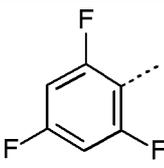
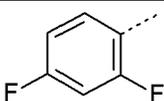
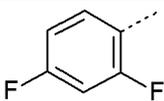
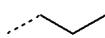
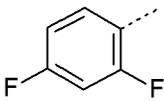
Типичные соединения формулы (I-V)

означает, что экспериментальная процедура описана в примерах.

				
Соед. №	№ эксп.	R ¹	Ar	Стереохимическая конфигурация
1-b	E5#			RS

2-b	E5#			*R
3-b	E5#			*S
4-b	E1#			RS
5-b	E1#			R
6-b	E1 (a) и (b) #			S
6- b.HCl	E1 (c) #			
7-b	E2#			S
8-b	E3#			S
9-b	E1 (b)			S
10-b	E1 (b)			S
11-b	E1 (b)			S
12-b	E1 (b)			S
13-b	E1 (b)			S

14-b	E1 (b)			S
15-b	E4#			S
16-b	E1 (a)			RS
17-b	E1 (a)			*R
18-b	E1 (a)			*S
19-b	E1 (b)			RS
20-b	E1 (b)			*R
21-b	E1 (b)			*S
22-b	E1 (b)			*R
23-b	E1 (b)			*S
24-b	E6#			RS
25-b	E1 (a)			RS

26-b	E6#			*R
27-b	E6#			*S
28-b	E1 (a)			*R
29-b	E1 (a)			*S
30-b	E1 (b)			RS
31-b	E1 (b)			*R
32-b	E1 (b)			*S

Аналитическая часть

Оптические вращения

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

$[\alpha]_{\lambda^T} = (100\alpha)/(l \times c)$: где l означает длину пробега в дм, а c означает концентрацию в г/100 мл для образца при температуре T ($^\circ\text{C}$) и длине волны λ (в нм). Если используемая длина волны света составляет 589 нм (D-линия натрия), то вместо этого можно использовать символ D. Всегда следует приводить знак направления вращения (+ или -). В случае использования данного уравнения концентрацию и растворитель всегда приводят в круглых скобках после угла вращения. Угол вращения указывают в градусах, а единицы концентрации не приводят (принято, что они представлены в г/100 мл).

Для получения характеристик соединений по настоящему изобретению с помощью (LC)MS использовали следующие способы.

Общая процедура

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

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (MS), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области находилась установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, минимального времени измерения и т.п.) с целью получения ионов, обеспечивающих определение номинальной моноизотопной молекулярной массы (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по их экспериментальному времени удерживания (R_t) и ионам. Если не указано иное, в таблице данных указанный молекулярный ион соответствует $[M+H]^+$ (протонированная молекула) и/или $[M-H]^-$ (депротонированная молекула). В случае, если соединение не было непосредственно способно к ионизации, указывали тип аддукта (т.е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т.д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl и т.п.) описанное значение является таким значением, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно ассоциированы с используемым способом.

Далее в данном документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "к.т" означает комнатную температуру, "ВЕН" означает мостиковый гибрид этилсилоксана/диоксида кремния, "HSS" означает силикагель повышенной прочности, "DAD" означает детектор на диодной матрице.

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

Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток ---- -- Т колонки	Время анализа	LCMS Способ
Waters: Acquity® UPLC® - DAD и SQD	Agilent: Eclipse Plus C18 RRHD (1,8 мкм, 2,1×50 мм)	А: 95% 6,5 мМ CH ₃ COONH ₄ + 5% CH ₃ CN, В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 4,6 мин., удерживание в течение 0,4 мин.	1 ----- 50	5	1
Waters: Acquity® UPLC® - DAD и SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм)	А: 95% 6,5 мМ CH ₃ COONH ₄ + 5% CH ₃ CN, В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 4,6 мин., удерживание в течение 0,4 мин.	1 ----- 50	5	2
Waters: Acquity UPLC® - DAD и Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	А: 95% 7 мМ CH ₃ COONH ₄ / 5% CH ₃ CN, В: CH ₃ CN	От 84,2% А в течение 0,49 мин. до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,94 мин., обратно до 84,2% А за 0,73 мин., удерживание в течение 0,73 мин.	0,343 ----- 40	6,2	3
Waters: Acquity® UPLC® - DAD и SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм)	А: 95% 6,5 мМ CH ₃ COONH ₄ + 5% CH ₃ CN, В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 7,8 мин., удерживание в течение 1,2 мин.	1 ----- 50	9	4

Температуры плавления

Значения представляют собой пиковые значения, и их получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с данным аналитическим способом.

Прибор Mettler FP 81HT/FP90

Для ряда соединений температуры плавления определяли в открытых капиллярных трубках прибором FP 81HT/FP90 (Mettler-Toledo). Температуры плавления измеряли при градиенте температуры 1, 3, 5 или 10°C/минута. Максимальная температура составляла 300°C. Температуру плавления считывали с цифрового дисплея.

Таблица С

Физико-химические данные для ряда соединений, время удерживания (R_t) в мин., пик, соответствующий $[M+H]^+$ (протонированная молекула), способ LCMS и т. пл. (температура плавления в °C)
(н. о. = не определено)

Соед. №	Т. пл. (°C)	R_t (мин.)	$[MH^+]$	Способ LCMS	Оптическое вращение
1-b	156,3	2,32	380	1	
2-b	176,9	2,93	380	3	-58,5° (589 нМ, с 0,53 вес./об.%, DMF, 20°C)
3-b	177,3	2,93	380	3	+59,4° (589 нМ, с 0,52 вес./об.%, DMF, 20°C)
4-b	121,7	2,41	398	1	
5-b	142	2,99	398,3	3	+95,7° (589 нМ, с 0,69 вес./об.%, DMF, 20°C)
6-b	142,4	2,99	398,2	3	-95,4° (589 нМ, с 0,7 вес./об.%, DMF, 20°C)
7-b	170,08	2,37	398	2	-55,7° (589 нМ, с 0,96 вес./об. %, DMF, 20°C)
8-b	н. о.	2,32	398	2	н. о.
9-b	н. о.	2,32	398	2	н. о.

10-b	н. о.	2,25	398	2	н. о.
11-b	н. о.	2,28	398	2	н. о.
12-b	н. о.	2,16	410	2	н. о.
13-b	144,1	2,68	410	2	н. о.
14-b	161,7	2,51	394	2	н. о.
15-b	80,3	2,37	416	2	-167,0° (589 нМ, с 0,55 вес./об.%, DMF, 20°C)
16-b	н. о.	2,50	412	2	н. о.
17-b	н. о.	3,12	412	3	н. о.
18-b	н. о.	3,12	412	3	н. о.
19-b	н. о.	2,39	402	2	н. о.
20-b	н. о.	2,3	402	2	н. о.
21-b	н. о.	3,36	402		н. о.
22-b	н. о.	2,35	420	2	н. о.
23-b	н. о.	2,35	420	2	н. о.
24-b	135,7	2,05	372	2	н. о.
25-b	138,3	2,13	390	2	н. о.
26-b	н. о.	2,80	372	3	-83,9° (589 нМ, с 0,52 вес./об.%, DMF, 25°C)
27-b	н. о.	2,80	372	3	+92,1° (589 нМ, с 0,55 вес./об.%, DMF, 25°C)
28-b	н. о.	2,85	390	3	-129,2° (589 нМ, с 0,5 вес./об.%, DMF, 25°C)

29- b	н. о.	2,85	390	3	+137,3° (589 нМ, с 0,51 вес./об. %, DMF, 25°C)
30- b	130,6	2,29	386	2	н. о.
31- b	127,85	2,29	386	2	-67,5° (589 нМ, с 0,83 вес./об. %, DMF, 20°C)
32- b	127,69	2,29	386	2	+89,5° (589 нМ, с 0,83 вес./об. %, DMF, 20°C)

SFC-MS

Общая процедура

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы от Berger instrument, содержащей гидравлический модуль управления насосом для двухкомпонентных смесей FCM-1200 для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматический пробоотборник для жидкостей CTC Analytics, модуль контроля температуры TCM-20000 для нагревания колонки от комнатной температуры до 80°C. Использовали УФ-детектор на фотодиодной матрице Agilent 1100, оснащенный проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающей давления до 400 бар. Поток из колонки разделяли для MS-спектрометра. MS-детектор был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. Параметры ионизации для масс-спектрофотометра Waters ZQ являются следующими: сила тока коронного разряда: 9 мкА, температура источника: 140°C, напряжение на конусе: 30 В, температура зонда 450°C, напряжение на экстракторе 3 В, скорость потока газа для десольватации 400 л/ч., скорость потока газа через конус 70 л/ч. В качестве газа-распылителя использовали азот. Сбор и обработку данных проводили с помощью системы сбора и обработки данных MassLynx-Openlynx от Waters-Micromass.

Способ 1: в дополнение к общей процедуре: аналитическое хиральное разделение в ходе SFC-MS проводили на колонке CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6×250 мм) при 35°C со скоростью потока 3,0 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой 85% CO₂, 15% iPrOH

(+0,3% iPrNH₂) с удерживанием в течение 7 мин. в

изократическом режиме.

Способ 2: в дополнение к общей процедуре: аналитическое хиральное разделение в ходе SFC-MS проводили на колонке CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6×250 мм) при 35°C со скоростью потока 3,0 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой 75% CO₂, 15% iPrOH

(+0,3% iPrNH₂) с удерживанием в течение 7 мин. в изократическом режиме.

Способ 3: в дополнение к общей процедуре: аналитическое хиральное разделение в ходе SFC-MS проводили на колонке CHIRALPAK AD DAICEL (10 мкм, 4,6×250 мм) при 35°C со скоростью потока 3,0 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой 80% CO₂, 10% метанол + 10% iPrOH (+0,3% iPrNH₂) с удерживанием в течение 7 мин. в изократическом режиме.

Таблица D

Аналитические данные SFC – R_t означает время удерживания (в минутах), [M+H]⁺ означает массу протонированного соединения, способ относится к способу, используемому для анализа энантимерно чистых соединений с помощью SFC/MS. Результаты измерения сравнивали со смесью.

№ соед.	R _t	[M+H] ⁺	% площади по УФ	Способ	Порядок элюирования изомеров*
6-b	4,28	398	100	1	A
5-b	5,98	398	100	1	B
2-b	2,13	380	100	2	A
3-b	2,97	380	100	2	B
17-b	2,46	412	100	3	A
18-b	3,12	412	100	3	B
31-b	2,93	386	100	1	A
32-b	3,81	386	100	1	B

*A означает первый элюируемый изомер. *B означает второй элюируемый изомер.

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР)

Для ряда соединений ¹H-ЯМР-спектры регистрировали на

спектрометрах Bruker DPX-400 или Bruker AV-500 со стандартными последовательностями импульсов, эксплуатируемых при 400 МГц и 500 МГц соответственно. Химические сдвиги (δ) указаны в частях на миллион (ppm) для слабополюного сдвига от тетраметилсилана (TMS), который использовали в качестве внутреннего стандарта.

Соед. № 6-b: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,30-0,38 (m, 2 H), 0,59-0,68 (m, 2 H), 1,14-1,22 (m, 1 H), 1,72 (d, $J=6,5$ Гц, 3 H), 3,02-3,14 (m, 2 H), 5,84 (q, $J=6,3$ Гц, 1 H), 6,67-6,73 (m, 1 H), 6,80-6,89 (m, 2 H), 7,30 (d, $J=7,4$ Гц, 1 H), 8,11 (d, $J=7,4$ Гц, 1 H)

Соед. № 7-b: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,30-0,39 (m, 2 H), 0,59-0,68 (m, 2 H), 1,11-1,23 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,5$ Гц, 3 H), 3,01-3,14 (m, 2 H), 5,83 (q, $J=6,2$ Гц, 1 H), 6,35-6,45 (m, 3 H), 7,13 (d, $J=7,2$ Гц, 1 H), 8,08 (d, $J=7,4$ Гц, 1 H)

Соед. № 8-b: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,30-0,38 (m, 2 H), 0,58-0,68 (m, 2 H), 1,11-1,22 (m, 1 H), 1,69 (d, $J=6,2$ Гц, 3 H), 3,01-3,13 (m, 2 H), 5,79 (q, $J=6,2$ Гц, 1 H), 6,53 (dtd, $J=9,2, 3,1, 3,1, 1,7$ Гц, 1 H), 6,72 (ddd, $J=11,6, 6,5, 3,1$ Гц, 1 H), 6,95-7,04 (m, 1 H), 7,15 (d, $J=7,4$ Гц, 1 H), 8,07 (d, $J=7,4$ Гц, 1 H)

Соед. № 15-b: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,30-0,41 (m, 2 H), 0,59-0,71 (m, 2 H), 1,16-1,25 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,4$ Гц, 3 H), 3,05-3,16 (m, 2 H), 5,80 (q, $J=6,4$ Гц, 1 H), 6,62-6,70 (m, 2 H), 7,45 (d, $J=7,5$ Гц, 1 H), 8,16 (d, $J=7,2$ Гц, 1 H)

Соед. № 13-b: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,27-0,39 (m, 2 H), 0,58-0,67 (m, 2 H), 1,12-1,21 (m, 1 H), 1,73 (d, $J=6,4$ Гц, 3 H), 2,22 (s, 3 H), 3,06 (qd, $J=15,4, 6,6$ Гц, 2 H), 5,92 (q, $J=6,4$ Гц, 1 H), 6,71 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H), 6,89 (dd, $J=8,4, 1,4$ Гц, 1 H), 7,18 (d, $J=1,7$ Гц, 1 H), 7,32 (d, $J=7,2$ Гц, 1 H), 8,07 (d, $J=7,2$ Гц, 1 H)

Соед. № 14-b: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ ppm 0,28-0,39 (m, 2 H), 0,57-0,69 (m, 2 H), 1,12-1,21 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,6$ Гц, 3 H), 2,31 (s, 3 H), 3,01-3,12 (m, 2 H), 5,79 (q, $J=6,6$ Гц, 1 H), 6,55 (dd, $J=9,0, 4,3$ Гц, 1 H), 6,69 (td, $J=8,5, 3,0$ Гц, 1 H), 6,87 (dd, $J=9,0, 2,9$ Гц, 1 H), 7,17 (d, $J=7,5$ Гц, 1 H), 8,06 (d,

$J=7,2$ Гц, 1 Н)

Соед. № 20-b: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ ppm 1,22 (t, $J=7,1$ Гц, 3 Н), 1,72 (d, $J=6,4$ Гц, 3 Н), 3,58 (q, $J=7,1$ Гц, 2 Н), 5,03-5,10 (m, 2 Н), 5,84 (q, $J=6,5$ Гц, 1 Н), 6,67-6,74 (m, 1 Н), 6,81-6,88 (m, 2 Н), 7,34 (d, $J=7,2$ Гц, 1 Н), 8,40 (d, $J=7,5$ Гц, 1 Н)

Соед. № 22-b: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ ppm 1,23 (t, $J=6,9$ Гц, 3 Н), 1,70 (d, $J=6,4$ Гц, 3 Н), 3,58 (q, $J=7,0$ Гц, 2 Н), 5,05 - 5,12 (m, 2 Н), 5,81 (q, $J=6,6$ Гц, 1 Н), 6,62-6,70 (m, 2 Н), 7,48 (d, $J=7,5$ Гц, 1 Н), 8,45 (d, $J=7,2$ Гц, 1 Н)

Соед. № 31-b: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ ppm 1,07 (t, $J=7,40$ Гц, 3 Н) 1,72 (d, $J=6,24$ Гц, 3 Н) 1,92 (sxt, $J=7,63$ Гц, 2 Н) 2,98-3,14 (m, 2 Н) 5,84 (q, $J=6,47$ Гц, 1 Н) 6,65-6,74 (m, 1 Н) 6,78-6,89 (m, 2 Н) 7,29 (d, $J=7,40$ Гц, 1 Н) 8,02 (d, $J=7,40$ Гц, 1 Н).

***In vitro* тестирование соединений формулы (I-B)**

Соединения формулы (I-B), представленные в настоящем изобретении, являются положительными аллостерическими модуляторами mGluR2. Данные соединения, по-видимому, усиливают ответы на глутамат путем связывания с аллостерическим сайтом, отличным от глутамат-связывающего сайта. В случае присутствия соединений формулы (I-B) ответ mGluR2 на концентрацию глутамата усиливается. Предполагается, что соединения формулы (I-B) оказывают свой эффект главным образом на mGluR2 благодаря своей способности к повышению функции рецептора. Эффекты положительных аллостерических модуляторов, тестируемых в отношении mGluR2 с использованием способа анализа связывания ^{35}S GTP γ S, описанного ниже, который подходит для идентификации таких соединений, и более конкретно, соединений формулы (I-B), показаны в таблице E.

Анализ связывания ^{35}S GTP γ S

Анализ связывания ^{35}S GTP γ S представляет собой функциональный анализ с использованием мембран, используемый для изучения функции рецепторов, сопряженных с G-белком (GPCR), с помощью которого измеряют включение негидролизуемой формы GTP, ^{35}S GTP γ S (гуанозин-5'-трифосфата, меченного гамма-излучающим

³⁵S). Субъединица α G-белка катализирует обмен гуанозин-5'-дифосфата (GDP) на гуанозинтрифосфат (GTP), и при активации GPCR агонистом происходит включение [³⁵S]GTP γ S, и его нельзя отщепить, с продолжением цикла обмена (Harper (1998) *Current Protocols in Pharmacology* 2.6.1-10, John Wiley & Sons, Inc.). Количество включенного радиоактивного [³⁵S]GTP γ S является непосредственным показателем активности G-белка, и, следовательно, можно определить активность агониста. Показано, что рецепторы mGlu2 преимущественно сопряжены с G α i-белком, что является преимущественным сопряжением для данного способа, и, следовательно, он широко используется для изучения рецепторной активации рецепторов mGlu2 как в рекомбинантных линиях клеток, так и в тканях. В данном документе авторы настоящего изобретения описывают использование анализа связывания [³⁵S]GTP γ S с использованием мембран клеток, трансфицированных рецептором mGlu2 человека, на основе материалов Schaffhauser *et al.* (*Molecular Pharmacology*, 2003, 4:798-810) для выявления свойств положительного аллостерического модулирования (PAM) у соединений по настоящему изобретению.

Получение мембран

Клетки CHO культивировали до состояния предконфлюентности и стимулировали 5 мМ бутиратом в течение 24 ч. Затем клетки собирали путем соскабливания в PBS и суспензию клеток центрифугировали (10 мин. при 4000 об./мин. в настольной центрифуге). Надосадочную жидкость сливали, а осадок осторожно ресуспендировали в 50 мМ Tris-HCl, pH 7,4, путем перемешивания с помощью вихревой мешалки и набора в пипетку и выпуска из пипетки. Суспензию центрифугировали при 16000 об./мин. (Sorvall RC-5C Plus с ротором SS-34) в течение 10 минут и надосадочную жидкость сливали. Осадок гомогенизировали в 5 мМ Tris-HCl, pH 7,4, с помощью гомогенизатора Ultra Turrax и вновь центрифугировали (18000 об./мин., 20 мин., 4°C). Конечный осадок повторно суспендировали в 50 мМ Tris-HCl, pH 7,4, и хранили при -80°C в подходящих аликвотах до применения. Концентрацию белка определяли по способу Бредфорда (Bio-Rad, США) с бычьим

сывороточным альбумином в качестве стандарта.

Анализ связывания [³⁵S]GTPγS

Измерение активности положительного аллостерического модулирования mGluR2 у тестируемых соединений проводили следующим образом. Тестируемые соединения и глутамат разбавляли в аналитическом буфере, содержащем 10 мМ HEPES в форме кислоты, 10 мМ HEPES в форме соли, pH 7,4, 100 мМ NaCl, 3 мМ MgCl₂ и 10 мкМ GDP. Мембраны, содержащие рецептор mGlu2 человека, размораживали на льду и разбавляли аналитическим буфером, дополненным 14 мкг/мл сапонины. Мембраны предварительно инкубировали с соединением в отдельности или вместе с глутаматом в предварительно определенной (~EC₂₀) концентрации (анализ PAM) в течение 30 мин. при 30°C. После добавления [³⁵S]GTPγS (конечная концентрация 0,1 нМ) аналитические смеси встряхивали в течение короткого периода и дополнительно инкубировали для обеспечения включения [³⁵S]GTPγS при активации (30 минут, 30°C). Конечные аналитические смеси содержали 7 мкг мембранного белка в 10 мМ HEPES в форме кислоты, 10 мМ HEPES в форме соли, pH 7,4, 100 мМ NaCl, 3 мМ MgCl₂, 10 мкМ GDP и 2 мкг/мл сапонины. Общий объем реакционной смеси составлял 200 мкл. Реакции останавливали путем быстрой фильтрации через планшеты Unifilter-96 GF/B (Perkin Elmer, Массачусетс, США) с помощью универсального коллектора FilterMate для 96-луночных планшетов. Фильтры 6 раз промывали ледяной смесью 10 мМ NaH₂PO₄/10 мМ Na₂HPO₄, pH 7,4. Затем фильтры высушивали на воздухе и в каждую лунку добавляли 40 мкл жидкой сцинтилляционной смеси (Microscint-0). Радиоактивность мембраносвязанных комплексов подсчитывали в сцинтилляционном и люминесцентном счетчике для микропланшетов от Perkin Elmer.

Анализ данных

Построение кривых зависимости концентрация-ответ для иллюстративных соединений по настоящему изобретению, получаемых в присутствии EC₂₀ глутаматергического агониста mGluR2, для определения положительного аллостерического модулирования (PAM) осуществляли с помощью программного интерфейса Lexis (разработанного в J&J). Расчет данных проводили в виде % от

контрольного ответа на глутамат, определяемого как максимальный ответ, вызываемый при добавлении отдельно глутамата. Сигмоидальные кривые зависимости концентрация-ответ, построенные путем нанесения этих значений в процентах в зависимости от логарифма концентрации тестируемого соединения, анализировали с помощью нелинейного регрессионного анализа. Затем рассчитывали концентрацию, вызывающую полумаксимальный эффект, в виде EC_{50} .

Нижеприведенные значения pEC_{50} рассчитывали в виде $-\log EC_{50}$, если EC_{50} выражали в М. E_{max} определяли как относительный максимальный эффект (т.е. максимальный эффект в % по сравнению с контрольным ответом на глутамат).

В таблице Е ниже показаны фармакологические данные, полученные для соединений формулы (I-B) и текущие фармакологические данные, полученные для соединений формул (I) и (I-A).

Таблица Е
Фармакологические данные для
соединений согласно настоящему
изобретению

Соед. №	GTP γ S - pEC_{50} PAM hmGluR2	GTP γ S - E_{max} PAM hmGluR2
1-b	6,59	296
2-b	6,84	228
3-b	5,79	187
6-b	7,39	256
5-b	6,06	141
4-b	7,04	329
7-b	7,31	292
8-b	7,04	244
9-b	7,3	260
10-b	7,47	218
11-b	8,25	239
12-b	6,99	178
16-b	7,54	284

13-b	7,75	280
14-b	7,53	281
15-b	8,16	293
19-b	6,71	297
25-b	6,9	233
24-b	6,42	193
17-b	7,73	317
18-b	6,24	213
22-b	7,61	325
23-b	5,94	167
21-b	6,32	102
20-b	7,07	332
26-b	6,78	214
27-b	n.c.	51
30-b	6,9	227
28-b	7,19	234
29-b	5,85	77
31-b	7,05	251
32-b	5,71	116
1	7,11	258
1a	6,95	286
2	7,82	290
2a	7,61	484
3	7,55	212
4	6,88	260
5	6,26	231
6	7,79	263
6a	7,68	261
7	8,45	263
8	6,73	360
9	6,9	462
10	7,21	357
11	6,94	310
12	8,36	261

13	6,9	278
1-a	6,78	314
2-a	6,84	340
3-a	6,88	231
4-a	6,6	269
5-a	n.t.	
6-a	6,34	255
7-a	6,64	291
8-a	6,04	157
9-a	6,59	222
10-a	6,88	290
11-a	7,11	249
12-a	7,03	242
13-a	6,67	212
14-a	6,92	259
15-a	7	253
16-a	7,12	223
17-a	6,54	261
18-a	n.t.	
19-a	6,71	240
20-a	6,91	243
21-a	6,25	207
22-a	6,05	259
23-a	6,58	203
24-a	6,91	258
25-a	7,07	261
26-a	6,5	248
27-a	6,48	284
28-a	6,96	297
29-a	6,97	317
30-a	n.t.	
31-a	n.t.	
32-a	6,66	347
33-a	6,58	362

n.s. означает, что pEC_{50} не могла быть рассчитана.

N.t. означает не тестировали

Значения pEC_{50} не рассчитывали в случаях, когда кривая зависимости концентрация-ответ не достигала уровня плато.

Все соединения тестировали в присутствии глутаматергического агониста mGluR2 в предварительно определенной концентрации EC_{20} для определения положительного аллостерического модулирования. Значения pEC_{50} рассчитывали из эксперимента по изучению зависимости концентрация-ответ по меньшей мере по 8 концентрациям.

В) ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОСУДОРОЖНОГО СРЕДСТВА С СОЕДИНЕНИЯМИ mGluR2 (ОРТОСТЕРИЧЕСКИМ АГОНИСТОМ И СОЕДИНЕНИЯМИ ФОРМУЛЫ (I)/(I-A)/(I-B))

Общая информация

Получение тестируемых соединений и растворов

Тестируемые соединения вводили с использованием оптимального соотношения объема жидкой формы и объема жидкостей тела. Тестируемые соединения вводили мышам в объеме 0,01 мл/г массы тела (White H.S., et al., General Principles: Experimental selection, quantification, and evaluation of antiepileptic drugs, in Antiepileptic Drugs, Fourth Edition, R. H. Levy, R.H. Mattson, and B. S. Meldrum, Editors. 1995, Raven Press, Ltd.: New York, pp. 99-110). Для подкожного (s.c.) введения тестируемые соединения вводили в складку кожи вдоль спины животного за исключением соединения **6-b**, которое вводили перорально (p.o). Для каждого из тестов, проводимых для тестируемых соединений (за исключением соединения **6-b**), конечные концентрации соединений вводили в виде водного раствора в 20% Нр- β -CD. Для соединения **6-b** сначала готовили 40% исходный раствор Нр- β -CD и использовали для составления соединения **6-b** в требуемых концентрациях для тестирования посредством перорального введения; конечные концентрации соединения вводили в виде суспензии в 20% Нр- β -CD. Для групп, получавших инертное вещество,

использовали 20% раствор Нр- β -CD.

Что касается LY-404039, конечные концентрации соединения вводили в виде раствора натрия хлорида s.c.

Что касается соединения CAS 1092453-15-0, конечные концентрации соединения вводили в 10% инертном веществе Нр- β -CD (+NaCl) после растворения.

Итоговые концентрации леветирацетама вводили в водном растворе 0,5% метилцеллюлозы (MC), вводимого посредством интраперитонеальной (i.p.) инъекции.

Важные реагенты

a) Растворы инертных веществ

0,5% метилцеллюлозы (MC)

40% исходный раствор гидроксипропил- β -циклодекстрина (Нр- β -CD)

b) Прочие растворы

Тетракаин (раствор 0,5% вес./об.) наносили по каплям из пластикового флакона-капельницы на глаза всех животных, которые должны были впоследствии получить стимуляцию электрическим током с помощью роговичных электродов.

Животные и условия содержания животных

Взрослых самцов мышей-альбиносов CF № 1 (26-35 г) получали из Charles River, Портедж, Мичиган. Животных содержали на подходящем рационе (Prolab RMH 3000), и им предоставляли свободный доступ к пище и воде, за исключением короткого периода времени, когда их вынимали из их клетки для тестирования. Недавно полученным животным в лаборатории предоставляли достаточное время для введения поправки на возможное ограничение в пище и воде, которому они подвергались при перевозке, перед использованием их в тестировании. Всех мышей содержали в пластиковых клетках в специально сконструированных камерах с регулируемой влажностью, воздухообменом и регулируемым освещением (12 часов включено - 12 часов выключено). Животных содержали, кормили и обеспечивали уходом в соответствии с рекомендациями публикации Национального совета "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals".

Минимальная двигательная недостаточность (ММІ)

Острую ММІ оценивали посредством комбинации непосредственных наблюдений за животным в отношении явных симптомов, связанных с неврологической или мышечной функцией у животного. Для мышей использовали процедуру с вращающимся стержнем с целью выявления минимальной мышечной или неврологической недостаточности. Если мышь помещали на стержень, вращающийся со скоростью 6 об./мин., животное могло поддерживать свое равновесие в течение длительных периодов времени. Животное считали нездоровым, если оно падало с этого вращающегося стержня три раза в течение периода 1 мин.

Определение медианных эффективных и токсических доз (ED₅₀ и TD₅₀)

Для определения ED₅₀ или TD₅₀ для каждого тестируемого соединения первая вводимая доза обычно была такой же дозой, которая была использована при успешном определении ТРЕ. Если исходная используемая доза была эффективной или токсической у более 50% животных, то следующая доза составляла половину от исходной дозы; если исходная доза была эффективной или токсичной у менее 50% животных, то следующая доза была в два раза больше исходной дозы. Третью и четвертую дозы подбирали для получения линии дозозависимого эффекта с равными интервалами между точками. Должно быть минимум 4 точки, которые либо включают 0 и 100%, либо находятся в этом диапазоне.

Определение ТРЕ

Животным в группах, как правило, по четыре в каждой вводили тестируемые соединения, и каждую группу тестировали в один из пяти моментов времени: 0,25, 0,5, 1, 2 или 4 ч. после обработки (White et al. 1995). ТРЕ определяли с помощью анализа со стимуляцией в 6 Гц (32 мА). Момент времени (0,25, 0,5, 1, 2 или 4 ч. после обработки), в который наблюдали максимальную защиту, считали временем пикового эффекта (ТРЕ).

В ТРЕ, определенное для данного исследования или определенное ранее, соединения тестировали в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 и/или 44 мА) в нескольких дозах, включая дозы, которые вызывают незначительную защиту или отсутствие

защиты и до полной защиты.

ED₅₀ и 95% доверительный интервал (C.I.) рассчитывали с помощью пробит-анализа в компьютерной программе, предоставленной лабораторией (Finney "Probit Analysis" 3rd Ed 1971, London: Cambridge University Press).

Сбор сыворотки крови для анализа pK/pD

В различных тестах животных умерщвляли после тестирования и кровь, слитую из туловища, и/или ткань головного мозга (целые головные мозги) собирали для количественной оценки уровней лекарственного средства. Сразу после тестирования животных декапитировали, и кровь, слитую из туловища, собирали в пробирку BD Vacutainer®, содержащую K₂EDTA, и охлаждали на льду до центрифугирования. После центрифугирования (13000–18000 об./мин., 5–7 мин.) плазму крови удаляли, и переносили в маркированную микроцентрифужную пробирку, и хранили при -80°C. Для сбора ткани головного мозга головные мозги удаляли сразу после декапитации и подвергали мгновенной заморозке. Замороженный образец помещали в маркированную центрифужную пробирку и хранили при -80°C.

Тест с психомоторными припадками при стимуляции в 6 Гц у мышей

Тест с психомоторными припадками при стимуляции в 6 Гц используют в качестве модели фармакорезистентных лимбических припадков. Припадок при стимуляции в 6 Гц отражает устойчивость к фенитоину, карбамазепину, ламотриджину и топирамату (Barton et al. "Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy" Epilepsy Research 2001, Vol. 47, pp. 217-222).

Способ проведения теста с психомоторными припадками при стимуляции в 6 Гц

У мышей вызывали фокальные эпилептические припадки посредством стимуляции роговицы (6 Гц, прямоугольный импульс 0,2 мс, длительность 3 с; Barton et al. 2001). Мышей тестировали при 32 мА или 44 мА. Перед стимуляцией на каждый глаз наносили капли 0,5% тетракаина. Припадки, вызванные стимуляцией роговицы в

данном анализе, характеризовались минимальной клонической фазой с последующими стереотипными формами автоматического поведения, включающими оглушенность, клонус передних конечностей, подергивание вибрисс и хвост Штрауба. Животные, не проявлявшие эти формы поведения, считались защищенными.

ПРИМЕР 1 – ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ 1 И 2

1.1. Исследование комбинаций с соед. № 1, соед. № 2 и леветирацетамом

Сначала каждое соединение тестировали индивидуально с дозой, которая демонстрировала минимальную активность в тесте со стимуляцией в 6 Гц 44 мА в момент ТРЕ каждого соединения. Если РАМ mGluR2и леветирацетам вводили в комбинации (такие же доза и момент времени, как и для индивидуальных тестов), наблюдали практически полную защиту в тесте со стимуляцией в 6 Гц 44 мА (таблица 2). В дополнение к регистрации данных эффективности и токсичности для таких соединений отдельно или в комбинации, у каждой группы отбирали как образцы плазмы крови, так и головного мозга для фармакокинетики/фармакокинетического анализа. Не наблюдали никакого фармаконетического взаимодействия, исходя из уровней соединений в образцах плазмы и головного мозга (данные не указаны). Следует отметить, что соединения 1 и 2 демонстрировали положительное фармакодинамическое взаимодействие с леветирацетамом в модели со стимуляцией в 6 Гц, которое, по-видимому, не было вызвано фармакокинетическим взаимодействием, и без повышения двигательной недостаточности (таблицы 2, 2а, 2b). Эффект 1 дозы соединения 2 также тестировали в отношении дозозависимого эффекта LEV. Как видно в таблице 3, имело место ~200-кратное отклонение ED₅₀ LEV по сравнению с результатами, полученными при тестировании отдельно LEV. LEV, по-видимому, незначительно повышает эффективность соед. № 2 (таблица 3).

1.2. Изоболографический анализ взаимодействий между соед. № 1 и леветирацетамом в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц

Проводили изоболографические исследования для комбинированного введения соед. № 1 с леветирацетамом (LEV) в

анализе со стимуляцией 6 Гц (44 мА). Исследования осуществляли в соответствии с ранее описанными способами (Madsen et al. 2011). Исходные значения ED_{50} определяли как для соед. № 1, так и для LEV и использовали для расчета теоретических значений ED_{50} (\pm стандартная погрешность среднего, SEM) для трех комбинаций фиксированных соотношений доз (LEV: соед. № 1): 1:3, 1:1 и 3:1. Используемые дозы были пропорциональными расчетным значениям ED_{50} . Например, соотношение доз, используемое для схемы 1:1, основывалось на $0,5 \times ED_{50}$ для LEV и $0,5 \times ED_{50}$ для соед. № 1. Аналогично в случае схемы 1:3 использовали $0,25 \times ED_{50}$ для LEV и $0,75 \times ED_{50}$ для соед. № 1. В случае соотношения доз 3:1 использовали $0,75 \times ED_{50}$ LEV и $0,25 \times ED_{50}$ для соед. № 1. Дозы для экспериментального лечения (см. таблицу 4) основывались на теоретических значениях, и их корректировали в соответствии с наблюдаемыми эффектами. Экспериментально выявленные значения ED_{50} (\pm SEM) для каждой комбинации фиксированного соотношения доз сравнивали в статистических целях с теоретическими значениями (t-критерий). Соотношение доз определяли как сверхаддитивное (синергетическое), если экспериментально выявленное значение ED_{50} было значительно ниже теоретического ED_{50} . Затем определяли экспериментальные комбинированные дозы для таких же схем в тесте эпилептических припадков со стимуляцией в 6 Гц (таблица 4 ниже). Результаты изоболографического исследования с соединением 1 и леветирацетамом в модели со стимуляцией в 6 Гц демонстрировали значительный синергизм фармакодинамического взаимодействия при всех оцениваемых соотношениях доз и близко соответствовало уровням соединения 1 в плазме. Кроме того, не наблюдали какой-либо двигательной недостаточности при любом из оцениваемых соотношений доз, что указывало на то, что синергетическое фармакодинамическое взаимодействие не оказывало повышенной токсичности на двигательные функции.

1.3. Мышиная модель роговичного киндлинга и исследования с соединением 1

У мышей электрическим током провоцировали припадки при помощи стимулов длительностью 3 секунды, 3 мА, 60 Гц, два раза в

день посредством электродов на роговице до достижения критерия 5 последовательных эпилептических припадков на стадии 5, согласно Racine (Racine "Modification of seizure activity by electrical stimulation" II. motor seizure" Electroenceph Clin Neurophysiol 1972, 32, pp. 281-294). После достижения у мышей устойчивого состояния киндлинга вводили тестируемое соединение или инертное вещество и, в заранее определенный ТРЕ, каждому животному подавали электрический стимул, как указано выше. После стимуляции животных исследовали на предмет наличия или отсутствия судорожной активности по шкале Расина (0-5), где 5 указывает на наиболее высокую степень падения и подъема. Одну дозу LEV и две дозы соед. № 1 тестировали отдельно и в комбинации в отношении эпилептических припадков, спровоцированных посредством повторной стимуляции роговицы. Комбинация соединения 1 с леветирацетамом в данной модели свидетельствовала о положительном фармакодинамическом взаимодействии (таблица 5 ниже).

Итоговые данные для тестируемых по отдельности соединений представлены в таблице 1, а дополнительные результаты исследований, проведенных в соответствии с примером 1, приведены в таблицах 2-5 ниже.

Таблица 1. Итоговые данные противосудорожных эффектов при остром приступе в модели со стимуляцией в 6 Гц при 32 мА и 44 мА для соединений РАМ mGluR2 1, 2, 11, 2-а, 25-а, 6-б и LY-404039 после s.c. введения (за исключением соединения 6-б, которое тестировали p.o.) ТРЕ означает время пикового эффекта, CI означает доверительный интервал, s.c. означает подкожно, p.o. означает перорально, n.t. означает не тестировали. ТРЕ определяли в тесте со стимуляцией 6 Гц, 32 мА. Эффекты, как правило, наблюдали для доз, которые не вызывали снижение при тесте вращающегося стержня. Для соединений 11 и 2-а представлены отдельные значения повторных экспериментов. Для соединения 25а для исследований со стимуляцией в 6 Гц (44 мА) использовали моменты времени как 0,25, так и 1 ч.

Соед. №	ТРЕ (ч.)	ED ₅₀ (95% CI) мг/кг, s.c.		Балл эпилептического припадка (доза)
		32 мА	44 мА	Провоцирование припадков посредством корнеального киндлинга
11	0,5	4,77 (3,54- 6,76) 9,41 (1,53- 15,1)	31,5 (15,1- 47,3)	2,8 (100 мг/кг)
2	0,25	3,83 (1,62- 6,71)	5,89 (3,89- 8,45)	3,4 (40 мг/кг)
1	0,5	2,8 (1,3-4,3)	10,2 (3,1- 12,4)	3,7 (20 мг/кг)
25-a	1	7,7 (2,3- 18,4)	1 час ТРЕ: 25,9 (15,5- 33,7) 0,25 час ТРЕ: 29,1 (21,6- 39,6)	n.t.
2-a	0,5	44,7 (23,4- 80,5) 20,8 (10,0- 31,7) 12,2 (8,4- 17,4)	50% защита при 100 мг/кг 21 (17,9-27,4)	4,4 (100 мг/кг)
6-b	0,5	7,2 (4,2- 11,8)	16,1 (13,0- 20,1)	n.t.
LY- 404039	0,5	10,2 (3,62- 12,4)	n.t.	3,1 (100 мг/кг)

Таблица 1а

Итоговые результаты определения ТРЕ при стимуляции в 6 Гц 32
мА для соед. № 1

Доза (мг/кг, s.c.)	Время (ч.)	6 Гц, 32 мА	Двигательная недостаточность
10	4	0/4	0/0
	2	0/4	0/0
	1	3/4	0/0
	0,5	4/4	0/0
	0,25	4/4	0/0
5	0,5	8/12	0/0
	0,25	8/12	0/0
2,5	0,5	5/8	0/0
	0,25	1/8	0/0

(Число мышей, защищенных при стимуляции в 6 Гц или подверженных токсическому влиянию по оценке способности удерживаться на вращающемся стержне/число протестированных мышей)

Таблица 1б

Исследования дозозависимого эффекта соед. № 1
Предварительно было определено, что ТРЕ для соед. № 1
составляет 0,5 ч. (результаты показаны выше в таблице
1а). Некоторые дозы соед. № 1 вводили при данном ТРЕ и
тестировали в анализе со стимуляцией в 6 Гц при
интенсивностях стимуляции как 32, так и 44 мА.

Тест	Доза (мг/кг, s.c.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
6Гц 32 мА	20	8/8	1/8
	10	7/8	0/8

	5	8/12	0/12
	2,5	7/16	0/16
	0,5	1/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 2,8 мг/кг (от 1,3 до 4,3)			
6Гц 44 мА	20	8/8	1/8
	15	7/8	0/8
	10	4/8	0/8
	2,5	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 10,2 мг/кг (от 3,1 до 12,4)			

Таблица 2

Итоговые данные взаимодействия соед. № 1 и соед. № 2 с леветирацетамом (LEV) в мышинной модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц, 44 мА Результаты приведены в виде числа мышей, у которых наблюдали полную защиту/общее число протестированных мышей в каждой группе дозирования (для заданных уровней дозировки тестируемого соединения или комбинации).

	Доза	Время (ч.)	Число защищенных/число протестированных	Число с токсическими эффектами в отношении двигательных функций/число протестированных
LEV	10 мг/кг, i.p.	1	1/6	0/6
Соед. № 2 + LEV	3 мг/кг, s.c.	0,25	5/6	0/6
Соед. № 2	3 мг/кг, s.c.	0,25	1/6	0/6
LEV	10 мг/кг, i.p.	1	1/8	0/8

Соед. № 1 + LEV	2,5 мг/кг, с.с.	0,5	6/8	0/8
Соед. № 1	2,5 мг/кг, с.с.	0,5	0/8	0/8

Таблица 2а

Уровни соед. № 1. в плазме крови и головном мозге в исследовании комбинации с леветирацетамом (LEV) BQL означает ниже количественно определяемого предела.

Соед. № 1	LEV	Плазма крови (нг/мл)	Соед. № 1	Плазма крови (нг/мл)	Защита при стимуляции в 6 Гц
6 Гц 44 мА	10 мг/кг	9350	2,5 мг/кг	BQL	Да
		8580		244	нет
		10900		314	Да
		10300		382	Да
		9780		416	Да
		9780		377	Да
		13700		2260*	нет
		10100		607	Да
Средний уровень в плазме крови		10311		657,1 (390)	6/8
Средние уровни в плазме крови (не комбинация)	1/8	8254	0/8	438	

Средний уровень в плазме крови, показанный в круглых скобках (), рассчитывали с удалением статистического критерия

для определения выбросов*

Таблица 2b

Уровни соед. № 2. в плазме и головном мозге в исследовании комбинаций с леветирацетамом (LEV) AQL означает выше количественно определяемого предела.

Соед. № 2	LEV	Плазма крови (нг/мл)	Головной мозг (нг/мл)	Соед. № 2	Плазма крови (нг/мл)	Головной мозг (нг/мл)	Защита при стимуляции в 6 Гц
6 Гц 44 мА	10 мг/кг	6450	6290	3 мг/кг	1830	1540	да
		8200	7990		386	1020	да
		3540	4760		4700	1310	да
		3850	NA		467	NA	нет
		7150	6380		AQL (>500)	1120	да
		3890	3960		2080	1140	да
Средние уровни в плазме крови/ головном мозге		5513	5876		1893	1226	5/6
Средние уровни в плазме крови/ головном мозге (не комбинация)	1/6	8750	5773	1/6	1295	1113	

NA - образец не доступный для анализа

Таблица 3. Определение ED₅₀ в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц (44 мА) для соед. № 2 и леветирацетама (LEV) отдельно и в комбинации LEV в дозе 10 мг/кг повышал активность соед. № 2 (~5-кратное отклонение ED₅₀). Соед. № 2 в дозе 3 мг/кг повышало как эффективность (до 100% защиты), так и активность LEV (~200-кратное отклонение ED₅₀).

На фигуре 1 показан дозозависимый эффект для результатов определений ED₅₀ при стимуляции в 6 Гц, 44 мА, для соед. № 2 и LEV отдельно и в комбинации.

Обработка	ED ₅₀ (95% CI) мг/кг	Максимальный эффект (% защиты)
Соед. № 2 отдельно	6,97 (5,44–8,30)	100%
Соед. № 2 + LEV (10 мг/кг)	1,35 (0,8–1,9)	100%
LEV отдельно	~ 200	75%
LEV + соед. № 2 (3 мг/кг)	1,0 (0,23–2,24)	100%

Таблица 4

Результаты соед. № 1 и леветирацетама в изоболографическом исследовании

Группа	LEV (мг/кг, i.p.)	f	Соед. № 1 (мг/кг, s.c.)	f	Комбинированная доза (мг/кг)	Вращающийся стержень Число с токсическими эффектами относительно двигательных функций/число протестированных	6 Гц (44 мА) Число защищенных/число протестированных
1:1 схема	181	0,5	5,1	0,5	93,1	0/8	8/8
	90,5		2,6		46,6	0/8	6/8
	45,3		1,3		23,3	0/8	3/8
	22,6		0,6		11,6	0/8	3/8
ED ₅₀ (95% CI; мг/кг): 22,2 (8,4-35,7)							
схема 1:3	45,3	.25	3,8	.75	14,2	0/8	8/8
	22,6		1,9		7,1	0/8	4/8
	11,3		1,0		3,6	0/8	2/8

ED ₅₀ (95% CI; мг/кг): 5,9 (3,5-8,7)							
схема 3:1	271,5	.75	2,6	.25	204,3	0/8	8/8
	135,8		1,3		102,2	0/8	3/8
	67,9		0,6		51,1	0/8	3/8
	33,9		0,3		25,5	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI; мг/кг): 86,3 (56,8-131,4)							

Результаты изоболографического анализа (фигура 2) свидетельствуют о том, что комбинация соед. № 1 и леветирацетама приводит в результате к значительному положительному синергетическому эффекту.

Таблица 5

Результаты соед. № 1 леветирацетама в исследовании комбинаций в модели роговичного киндлинга у мышей

Соединение (соединения)	Число защищенных/число протестированных	% защищенных	Средняя оценка эпилептического припадка
Инертное вещество (20% НРВСД через 30 мин., с.с.; 0,5% МС через 60 мин., i.p.)	0/10	0%	4,7
LEV, 3 мг/кг	5/13	38%	3,3
Соед. № 1, 30 мг/кг	3/12	25%	4,0
LEV, 3 мг/кг, и соед. № 1, 30 мг/кг	10/10	100%	0,6
Соед. № 1, 20 мг/кг	5/16	31%	3,7

LEV, 3 мг/кг, и соед. № 1, 20 мг/кг	7/10	70%	1,9
Оценка эпилептического припадка по шкале Расина		От 0 до 5 0 = отсутствие судорожной активности 5 = максимальная судорожная активность	

ПРИМЕР 2 - ИССЛЕДОВАНИЯ С СОЕДИНЕНИЯМИ 25-а И 2-а

2.1. Исследование комбинаций соед. № 25-а и леветирацетама

Осуществляли независимые исследования дозозависимого эффекта в тесте со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА, для обоих соединений с целью определения значений ED₅₀ в ТРЕ 1 ч., i.p., для леветирацетама, так и для 1 ч., s.c., для соед. № 25-а. Значение ED₅₀ для соед. № 25-а составляло 25,9 мг/кг, а для леветирацетама значение оценивали как равное примерно 345 мг/кг. Дозозависимый эффект для леветирацетама повторялся при комбинированном введении 10 мг/кг соед. № 25-а (доза соед. № 25-а, которая в отдельности не защищала в модели со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА). Комбинированное введение 10 мг/кг соед. № 25-а давало ED₅₀ для дозозависимого эффекта леветирацетама в 4,9 мг/кг (~70-кратное снижение по сравнению с леветирацетамом отдельно) и, что важно, обеспечивало полную защиту в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц, 44 мА. Такие результаты позволяют предположить о положительном фармакодинамическом взаимодействии между соед. № 25-а и леветирацетамом в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц.

Таблица 6. Определение времени достижения пикового эффекта для соед. № 25-а в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА). В данном исследовании использовали две дозы, 10 и 20 мг/кг, в нескольких моментах времени (0,25-4 ч.). Соединение проявило наибольшую степень защиты в анализе со стимуляцией в 6 Гц, от 0,25 до 1 ч., которая была наиболее выраженной при 20 мг/кг.

Уровни соединения в плазме крови, как правило, соответствовали защите от поведенческого припадка. ТРЕ 0,25 ч. использовали для исследований со стимуляцией в 6 Гц (32 мА), при этом для исследований со стимуляцией в 6 Гц (44 мА) использовали моменты времени как 0,25, так и 1 ч.

s.c. означает подкожный

Доза (мг/кг, s.c.)	Время (ч.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных	Средние уровни соед. № 25-а (нг/мл) в плазме крови
10	0,25	2/4	0/4	10,983 (2,477)
	0,5	1/4	0/4	3,330
	1	1/4	1/4	700
	2	0/4	0/4	256
	4	0/4	0/4	40
20	0,25	4/4	0/4	4,095
	0,5	3/4	1/4	2,800
	1	4/4	1/4	1,765
	2	1/4	0/4	618
	4	1/4	1/4	28

Средний уровень в плазме крови, показанный в круглых скобках (), рассчитывали с удалением статистического критерия для определения выбросов.

Таблица 7

Исследования дозозависимых эффектов для соед. № 25-а в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА^а и 44 мА^б)

CI означает доверительный интервал

Тест	Доза (мг/кг, с.с.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных	Средние уровни соед. № 25-а (нг/мл) в плазме крови
6Гц 32 мА	20	8/8	0/8	5,570
	15	3/8	0/8	1,201
	10	4/8	0/8	6,113
	5	4/8	0/8	2,558
	1	1/8	0/8	466
ED ₅₀ (95% CI): 7,7 мг/кг (от 2,3 до 18,4)				
6Гц 44 мА	40	7/8	0/8	6,263
	30	3/8	0/8	7,220
	20	2/8	0/8	3,368
	10	0/8	0/8	4,345 (1,526)
	5	0/8	1/8	1,428
ED ₅₀ (95% CI): 29,1 мг/кг (от 21,6 до 39,6)				

^аВремя достижения пикового эффекта в анализе со стимуляцией в 6 Гц, 32 мА, для соед. № 25-а определяли как соответствующий 0,25 ч. (см. таблицу 1).

^бВремя достижения пикового эффекта в анализе со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА, для соед. № 25-а было одинаковым для 0,25 ч. и 1 ч.; результаты для 1 ч. подтверждали ED₅₀ (95% CI) 25,9 (15,5-33,7) (см. таблицы 1 и 6).

Средний уровень в плазме крови, показанный в круглых скобках (), рассчитывали с удалением статистического критерия для определения выбросов.

Таблица 8

Исследования комбинаций для соед. № 25-а с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)

Лекарственное средство	Доза (мг/кг, s.c.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED ₅₀ (95% CI): 345,4 мг/кг (от 211,0 до 485,3)			
LEV + соед. № 25-а, 10 мг/кг	200	8/8	1/8
	100	7/8	2/8
	50	5/8	1/8
	10	4/8	0/8
	1	4/8	1/8
ED ₅₀ (95% CI): 4,9 (0,0-14,2)			

Соед. № 25-а (s.c.), 10 мг/кг, протестированное в комбинации с LEV (i.p.) - Соед. № 25-а, 10 мг/кг, не активно при отдельном введении.

2.2. Исследование комбинаций соед. № 2-а и леветирацетама

Осуществляли исследования дозозависимого эффекта в тестах со стимуляцией в 6 Гц, 32 мА и 44 мА, (таблица 9 ниже) и в тесте комбинаций с леветирацетамом (влияние соед. № 2-а на дозозависимый эффект LEV в таблицах 10а и влияние LEV на

дозозависимый эффект соед. № 2-а в таблице 10b ниже) таким же образом, как описано для исследований с соед. № 25-а и леветирацетамом выше.

Таблица 9

Исследования дозозависимых эффектов для соед. № 2-а в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА и 44 мА; ТРЕ 0,5 ч.)
Время достижения пикового эффекта 0,5 ч. определяли в тесте со стимуляцией в 6 Гц, 32 мА (s.c.), и использовали для исследований со стимуляцией в 6 Гц (32 мА и 44 мА).

Тест	Доза (мг/кг, s.c.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
6Гц 32 мА	40	8/8	2/8
	20	6/8	3/8
	10	4/8	0/8
	5	0/8	0/8
	2,5	0/8	1/8
ED ₅₀ (95% CI): 12,2 мг/кг (от 8,4 до 17,4)			
6Гц 44 мА	40	8/8	4/8
	20	3/8	0/8
		3/8	0/8
	15	2/8	1/8
10	0/8	1/8	
	0/8	0/8	
ED ₅₀ (95% CI): 21,0 мг/кг (от 17,9 до 27,4) TD ₅₀ : >40 мг/кг ^a			

^a40 мг/кг - 6 из суммарно 16 (комбинированные 32 мА и 44 мА) с недостаточностью.

Доза, выбранная для исследования комбинаций с LEV в 6 Гц (44 мА): соед. № **2-а** 10 мг/кг.

Таблица 10а

Исследования комбинаций для соед. № 2-а с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА) Комбинация 10 мг/кг соед. № 2-а с разными дозами леветирацетама.

Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 мг/кг (от 211,0 до 485,3)			
LEV + Соед. № 2-а 10 мг/кг ^a	200	6/8	1/8
	100	6/8	0/8
	50	6/8	0/8
	25	8/8	0/8
	12,5	5/8	0/8
	6,25	4/8	0/8
	3,125	3/8	1/8
	1,5625	0/8	0/8
LEV ED ₅₀ (95% CI): 9,6 мг/кг (1,7-21,9)			

^aСоед. № 2-а (s.c.) 10 мг/кг, тестировали в комбинации с LEV (i.p.); соед. № 2-а, 10 мг/кг, не активно при введении отдельно.

Дополнительные контрольные группы для LEV (низкая дозировка) тестировали при 25 и 6,25 мг/кг (1/8 и 0/6 защищенных соответственно).

Мыши, обработанные инертным веществом (0,5% метилцеллюлозой, i.p., (1 ч.)/20% НРВСД s.c. (0,5 ч.)) не демонстрировали защиту (0/8 защищены).

Таблица 10b

Исследования комбинаций для соед. № 2-а с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА) Комбинация 350 мг/кг леветирацетама с разными дозами соед. № 2-а.

Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV (отдельно) ^a	350	3/8	0/8
LEV 350 мг/кг + соед. № 2-а ^b	20	8/8	2/8
	10	7/8	1/8
	5	7/8	1/8
	2,5	5/8	0/8
	1,25	4/8	0/8
<p>Предварительное значение ED₅₀ для соед. № 2-а (95% CI): 21,0 мг/кг (от 17,9 до 27,4)</p> <p>ED₅₀ для комбинации LEV и соед. № 2-а (95% CI): 1,5 мг/кг (0,1-2,7)</p> <p>~14-кратное отклонение активности</p>			

^aED₅₀ для LEV (представленное отдельно), предварительное определенное при стимуляции в 6 Гц (44 мА): 345 мг/кг.

^bСоед. № **2-а** (s.c.) 10 мг/кг, тестировали в комбинации с LEV (i.p.); соед. № **2-а**, 10 мг/кг, не активно при введении отдельно.

Дополнительные контрольные группы для LEV (низкая дозировка) тестировали при 25 и 6,25 мг/кг (1/8 и 0/6 защищенных соответственно).

Мыши, обработанные инертным веществом (0,5% метилцеллюлозой, i.p., (1 ч.)/20% НРВСД s.c. (0,5 ч.) не демонстрировали защиту (0/8 защищены).

При дозе 10 мг/кг, s.c., соед. № **2-а** повышало эффективность LEV, что приводило примерно к 35-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствовало о положительной фармакодинамической взаимосвязи (таблица 10а). При дозе 350 мг/кг, s.c., LEV повышало эффективность соед. № **2-а**, что приводило примерно к 14-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствовало о положительной фармакодинамической взаимосвязи (таблица 10b).

ПРИМЕР 3 – ИССЛЕДОВАНИЯ С СОЕДИНЕНИЕМ 6-б

3.1. Исследование комбинаций с соед. № 6-б и леветирацетамом

Осуществляли независимые исследования дозозависимого эффекта в тесте со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА, для обоих соединений для определения значений ED₅₀ в ТРЕ 1 ч., i.p., для леветирацетама, так и для 0,5 ч. p.o. для соед. № **6-б**. Значение ED₅₀ для соед. № **6-б** составляло 16,1 мг/кг, а для леветирацетама значение оценивали как равное примерно 345 мг/кг. Дозозависимый эффект для леветирацетама повторялся при комбинированном введении 10 мг/кг соед. № **6-б** (доза соед. № **6-б**, которая в отдельности не защищала в модели со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА). Комбинированное введение 10 мг/кг соед. № **6-б** давало ED₅₀ для дозозависимого эффекта леветирацетама в 2,4 мг/кг (~100-раз ниже по сравнению с леветирацетамом отдельно) и, что важно, давало на выходе полную защиту в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц, 44 мА. Такие результаты позволяют

предположить о положительном фармакодинамическом взаимодействии в модели эпилептического припадка при стимуляции в 6 Гц между соед. № 6-в и леветирацетамом.

Результаты исследований, проведенных с соединением 6-в, приведены в таблицах 11-13 ниже.

Таблица 11

Определение времени достижения пикового эффекта для соед.

№ 6-в (р.о.) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА)

Доза (мг/кг, р.о.)	Время (ч.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
10	0,25	1/4	0/4
	0,5	3/4	0/4
	1	0/4	0/4
	2	1/4	0/4
	4	0/4	0/4
20	0,25	4/4	0/4
	0,5	3/4	0/4
	1	4/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	1/4	0/4

Определили, что ТРЕ составляло 0,5 ч.

Таблица 12

Исследование дозозависимых эффектов для соед. № 6-в в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА и 44 мА; ТРЕ 0,5 ч.)

Тест	Доза (мг/кг, р.о.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
6Гц 32 мА	20	7/8	0/8
	10	6/8	0/8
	5	2/8	0/8
	2,5	1/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 7,2 мг/кг (от 4,2 до 11,8)			
6Гц 44 мА	40	8/8	0/8
	20	6/8	0/8
	15	4/8	0/8
	10	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 16,1 мг/кг (от 13,0 до 20,1)			

Таблица 13

Исследования комбинаций для соед. № 6-в с LEV в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)

Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV	200	2/8	0/8

	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED ₅₀ (95% CI): 345,4 мг/кг (от 211,0 до 485,3)			
LEV + соед. № 6-b, 10 мг/кг	200	8/8	0/8
	100	8/8	0/8
	50	5/8	0/8
	10	5/8	0/8
	1	5/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 2,4 (0,0 - 6,4)			

Соед. № **6-b** (р.о.), 10 мг/кг, протестированное в комбинации с LEV (i.p.)

Соед. № **6-b**, 10 мг/кг, не активно при введении отдельно

ПРИМЕР 4 - ИССЛЕДОВАНИЯ С СОЕДИНЕНИЕМ LY404039

3.1. Исследование комбинации с LY404039 и леветирацетамом

LY-404039 тестировали отдельно и в комбинации с леветирацетамом в соответствии с процедурами, уже описанными в данном документе выше. Результаты исследований, проведенных с соединением LY-404039, приведены в таблицах 14-15.

Таблица 14

Исследования дозозависимых эффектов для LY404039 в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА и 44 мА) Время достижения пикового эффекта 0,5 ч. определяли в тесте со стимуляцией в 6 Гц, 32 мА (s.c.), и использовали для исследований со стимуляцией в 6 Гц (32 мА и 44 мА).

Тест	Доза (мг/кг, s.c.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
6Гц 32 мА	40	8/8	1/8
	20	6/8	1/8
	10	5/8	0/8
	5	1/16	1/16
ED ₅₀ (95% CI): 10,9 мг/кг (от 7,8 до 15,9)			
6Гц 44 мА	40	7/8	2/8
	20	7/8	1/8
	10	3/8	1/8
	5	0/16	0/16
ED ₅₀ (95% CI): 14,1 мг/кг (от 10,0 до 20,6) TD ₅₀ : > 40 мг/кг ^a			

^a40 мг/кг - 3 из суммарно 16 (комбинированные 32 мА и 44 мА) с недостаточностью.

Примечание: не наблюдали активность после введения инертного вещества при 32 или 44 мА.

Доза, выбранная для исследований комбинаций с LEV в 6 Гц (44 мА): LY404039 5 мг/кг.

Исследования комбинаций для LY404039 с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)

Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV ^a	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 мг/кг (от 211,0 до 485,3)			
LEV + LY404039, 5 мг/кг ^b	200	8/8	0/8
	50	6/8	1/8
	20	6/8	2/8
	5	2/8	1/8
LEV ED ₅₀ (95% CI): 12,8 мг/кг (2,5 – 25,2)			

^aLEV отдельно показан ранее, подтверждающие дозы осуществляли в комбинации с соед. № 2-а (см. предыдущую таблицу выше).

^bLY404039 (s.c.), 5 мг/кг, протестированные в комбинации с LEV (i.p.); LY404039, 5 мг/кг, не было активным при введении отдельно.

Дополнительные контрольные группы для LEV (низкая дозировка) тестировали при 25 и 6,25 мг/кг (1/8 и 0/6 защищенных соответственно).

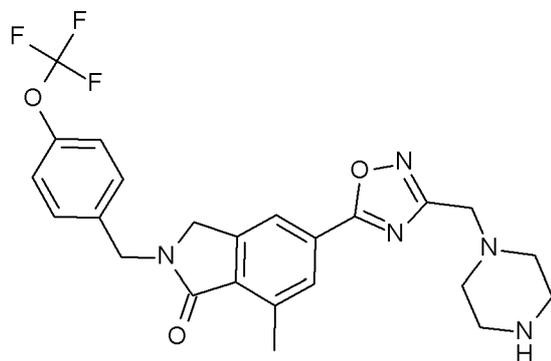
Мыши, обработанные инертным веществом (10% стерильная вода - NaCl; s.c., 0,5 ч. TPE и 0,5% MC, i.p., 1 ч. TPE), не

демонстрировали защиту или ухудшение при оценке способности удерживаться на вращающемся стержне.

При дозе 5 мг/кг LY404039 повышало эффективность LEV, что приводило примерно к 27-кратному сдвигу ED₅₀. Это свидетельствует о положительной фармакодинамической взаимосвязи.

ПРИМЕР 4 - ИССЛЕДОВАНИЯ С СОЕДИНЕНИЕМ CAS 1092453-15-0

4.1. Исследование комбинаций с 2,3-дигидро-7-метил-5-[3-(1-пиперазинилметил)-1,2,4-оксадиазол-5-ил]-2-[[4-(трифторметокси)фенил]метил]-1H-изоиндол-1-оном [CAS 1092453-15-0] (описанным в WO 2008150233, WO 2011084098) и леветирацетамом



CAS 1092453-15-0 тестировали отдельно и в комбинации с леветирацетамом в соответствии с процедурами, уже описанными в данном документе выше. Результаты примера 5 приведены в таблицах 16-17.

Таблица 16

Исследования дозозависимого эффекта для CAS 1092453-15-0 в анализе со стимуляцией в 6 Гц (32 мА)

Доза (мг/кг, с.с.)	Время (ч.)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
20	0,25	1/4	0/4
	0,5	0/4	0/4

	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
40	0,25	1/4	0/4
	0,5	1/4	0/4
	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
80	0,25	0/4	0/4
	0,5	0/4	0/4
	1	1/4	1/4

Наблюдали низкую активность в протестированных дозах и моментах времени. Наибольшая активность через 0,25-1 ч. в протестированных дозах. Исследования комбинаций проводили с использованием 20 мг/кг, s.c, 1 ч. ТРЕ в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА).

Таблица 17

Исследования комбинаций для CAS 1092453-15-0 с леветирацетамом (LEV) в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)

Лекарственное средство	Доза LEV (мг/кг)	Число защищенных/число протестированных	Число имеющих двигательную недостаточность по результатам теста с вращающимся стержнем/число протестированных
LEV ^a	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9

	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 мг/кг (от 211,0 до 485,3)			
[CAS 1092453-15-0] (20 мг/кг, отдельно)		0/8	0/8
LEV + [CAS 1092453-15-0] 20 мг/кг ^b	400	4/8	0/8
	200	5/8	0/8
	50	3/8	0/8
	20	2/8	0/8
	5	1/8	1/8
LEV ED ₅₀ (95% CI): 238,9 мг/кг (41,6 - превышает наиболее высокую протестированную дозу)			

^aДополнительные контрольные группы для LEV (в низкой дозировке) тестировали при 25 и 6,25 мг/кг (1/8 и 0/6 защищенных соответственно).

^b[CAS 1092453-15-0], 20 мг/кг (s.c.; 1 ч. TPE), протестированные в комбинации с LEV (i.p.; 1 ч. TPE); [CAS 1092453-15-0], 20 мг/кг, демонстрировали низкую активность при введении отдельно (6 Гц, 32 мА) и не были протестированы в анализе со стимуляцией в 6 Гц (44 мА). Данное соединение демонстрировало *in vitro* EC₅₀=562 нМ (E_{max}=197%) при тестировании в анализе GTPγS, описываемом выше в данном документе, и какой-либо занятости не наблюдали в *ex vivo* экспериментах с крысами.

Примечание: животные, обработанные инертным веществом (10% NPβCD-NaCl, s.c., 1 ч. и 0,5% MC, i.p., 1 ч.), не демонстрировали защиту или двигательную недостаточность, N=8.

Текущий набор данных указывает на то, что PAM mGlu2 или молекулы-агонисты mGlu2 обладали противосудорожной активностью в животной модели при стимуляции в 6 Гц. Протестированные PAM

mGlu2 с EC_{50} активностями ≤ 150 нМ (которые определяли в анализе [^{35}S]GTP γ S), соответствующими PK параметрами и способностью проникать в головной мозг демонстрировали активность как в схеме со стимуляцией в 32 мА, так и в схеме со стимуляцией в 44 мА, 6 Гц. Кроме того, все протестированные молекулы демонстрировали синергетические эффекты с LEV. Напротив, молекула CAS 1092453-15-0, которая была лишь в незначительной степени активной (EC_{50} 562 нМ) *in vitro*, не демонстрировала активность в каком-либо из тестов со стимуляцией в 6 Гц, а также не демонстрировала синергизм с LEV.

Важно отметить, что данные указывают на то, что в условиях сопоставимых PK характеристик и соответствующей способности проникать в головной мозг наиболее активные PAM mGlu2, исходя из *in vitro* значений EC_{50} , также проявляли себя как наиболее активные *in vivo*, что свидетельствует о том, что *in vitro* и *in vivo* активности могут быть связанными. Кроме того, синергетические эффекты с LEV закономерно наблюдали для доз PAM mGlu2, сходных с ED_{50} , полученных в модели со стимуляцией в 32 мА, или при дозе по меньшей мере в 2-раза ниже ED_{50} , определенной в схеме со стимуляцией в 44 мА (т.е. доза была неактивной в тесте со стимуляцией в 44 мА, при тестировании отдельных молекул).

Также что касается LY404039, агониста mGlu2/3, наблюдали активность в обоих тестах со стимуляцией в 6 Гц, а синергизм наблюдали при дозе в 3 раза меньше ED_{50} , определенной в модели со стимуляцией в 44 мА, который был неактивным при тестировании по отдельности.

На основе общедоступных данных доклинических исследований в модели со стимуляцией в 6 Гц, 44 мА, по-видимому, комбинирование активного лиганда SV2A и активного PAM mGlu2 приводит к снижению медианной эффективной дозы или ED_{50} лиганда SV2A, такого как LEV, в 35-100 раз.

Таким образом, не вдаваясь в какую-либо теорию, полагают, что соединения, представляющие собой положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического

рецептора 2 подтипа (PAM mGluR2), в частности соединений PAM mGluR2, обладающие активностью $EC_{50} \leq$ в 150 нМ (по результатам определения в анализе $[^{35}S]GTP\gamma S$), где EC_{50} является концентрацией, дающей полумаксимальный эффект в кривой зависимости концентрация-ответ, полученной в присутствии EC_{20} глутамата, и с соответствующими PK параметрами и способностью проникать в головной мозг, дают в результате синергетическую комбинацию с лигандом SV2A, в частности леветирацетамом, при неэффективных дозах одного или и первого, и второго из соединения (a) и соединения (b) комбинации по настоящему изобретению.

Таким образом, в дополнительном варианте осуществления соединение, представляющее собой положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа (PAM mGluR2), комбинации по настоящему изобретению, которая определена в данном документе, выбрано из соединения PAM mGluR2, обладающего активностью EC_{50} в ≤ 150 нМ (по результатам определения в анализе $[^{35}S]GTP\gamma S$), где EC_{50} является концентрацией, дающей полумаксимальный эффект на кривой зависимости концентрация-ответ, полученной в присутствии EC_{20} глутамата.

ПРИМЕРЫ ВОЗМОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

А) ДОМИНАНТНО-ПОДЧИНЕННЫЕ ОТНОШЕНИЯ (DSR) У КРЫС В АНАЛИЗЕ *IN VIVO*

Анализ DSR разделен на две модели: уменьшение мании в модели доминантного поведения (RDBM) и уменьшение депрессии в модели подчиненного поведения (RSBM). Модель RDBM, в которой доминантных животных обрабатывали тестируемым соединением, позволяет прогнозировать способность тестируемого соединения лечить манию. Модель RSBM, в которой подчиненных животных обрабатывали тестируемым соединением, позволяет прогнозировать способность тестируемого соединения лечить депрессию.

В данном анализе использовали самцов крыс линии Спраг-Доули (от 140 до 160 г) из Charles River Laboratories, Уилмингтон, Массачусетс. Партии крыс получали с двухнедельными интервалами.

Каждую партию подвергали пятисуточному карантину, однонедельному периоду акклиматизации и однонедельному процессу отбора, после которых следовала пятинедельная обработка отобранных пар лекарственным средством или инертным веществом.

Крыс содержали в клетках по четыре особи на каждую. Доступ к пище ограничивали до одного часа в сутки после проведения тестирования с понедельника по четверг. После проведения тестирования в пятницу крысам обеспечивали свободный доступ к пище до повторного воздержания от пищи в воскресенье. На протяжении всех периодов времени крыс не лишали воды. Задействованные периоды лишения пищи оказывали незначительный эффект на увеличение массы, поскольку средняя масса крыс к завершению исследования будет составлять приблизительно 300 г. В конце эксперимента крыс умерщвляли посредством декапитации, кровь, слитую из туловища, и головной мозг отбирали для экспериментов *in vitro* и измерений концентрации лекарственного средства.

Основное устройство для тестирования состояло из двух камер, соединенных лишь туннелем, настолько большим, чтобы позволить одной крысе проходить через него в конкретный момент времени. На дне, в средней части туннеля, размещали емкость с подслащенным молоком. Это основное устройство дублировали так, чтобы суммарно одновременно четыре пары крыс можно было регистрировать на видеоканалу. Камера могла распознавать крыс, меченных разными цветами. Так, головы крыс окрашивали с целью видеозаписи, красным цветом в одной клетке и желтым цветом в другой. Только одно животное в определенный момент времени может иметь свободный доступ к кормушке, но оба животных ежедневно могут пить молоко в течение пятиминутного периода. В течение ежедневных пятиминутных периодов время, проведенное в зоне кормушки каждой крысой, записывали программным обеспечением для видеозахвата и сохраняли в текстовый файл.

Тест начинали с рандомизированного разделения крыс на пары. Каждую крысу из пары помещали в противоположную камеру устройства для проведения теста. Записывали время, проведенное каждым животным в зоне кормушки. В течение первой недели (пяти

суток) тестирования животных приучали к новой среде обитания. Доминирование присваивали животному с наивысшим показателем в течение второй недели тестирования при выполнении трех критериев. Во-первых, должно быть значимое различие (двусторонний t-критерий, $P < 0,05$) между средними ежедневными показателями питья у обоих животных. Во-вторых, показатель доминантного животного должен быть по меньшей мере на 25% выше, чем показатель подчиненного животного. В итоге, не должно быть "перемен" в течение недели отбора пар, при которых гипотетически подчиненная крыса опережала по показателю своего доминантного партнера в единичных случаях. В идеале в течение недели акклиматизации перемены будут минимальными. Только пары животных, которые соответствовали этим критериям, продолжали участие в исследовании.

Значимые отличия между временем, проведенном у кормушки доминантной и подчиненной крысами, определяли посредством ANOVA при помощи программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., Сан-Диего, Калифорния) с последующей оценкой двусторонним t-критерием ($P < 0,05$). Проводили сравнения между группами обработки при помощи нормализованных значений уровня доминирования у животных в паре. Уровень доминирования представлял собой значение, с помощью которого измеряли социальные взаимоотношения между субъектами в паре. Уровень доминирования $(DL) = FTD - FTS$, где FTD является временем, проведенным у кормушки доминантными крысами, а FTS является временем, проведенным у кормушки подчиненными крысами. Нормализацию осуществляли в соответствии с формулой:

$$\text{уровень доминирования (неделя, } n \text{ в \%)} = \frac{(\text{уровень доминирования (неделя, } n))}{(\text{уровень доминирования (неделя } 2))}.$$

Статистическую значимость различия уровня доминирования между контрольной группой (пары крыс, где как доминантных, так и подчиненных животных обрабатывали инертным веществом) и группой обработки (подчиненных крыс обрабатывали лекарственным средством, а доминантных крыс инертным веществом) определяли при помощи ANOVA с последующей оценкой t-критерием. Значение времени

до начала действия на уровне 50% реакции (AOT-50) и минимальную, и максимальную реакцию на лекарственное средство с учетом уменьшения значения уровня доминирования рассчитывали при помощи анализа нелинейной регрессии (GraphPad Software, Inc., Сан-Диего, Калифорния). Для данных расчетов использовали нормализованные значения DL, где значения DL для недель обработки нормализовали в виде процентного значения второй недели (до обработки) такой пары в соответствии с приведенной выше формулой. При таких параметрах минимальная реакция (DL) указывала на положительную активность лекарственного средства, в соответствии с эффективностью, поскольку значения DL уменьшались, если реакция на лекарственное средство была положительной. В случае отрицательной реакции на лекарственное средство (нарастание выраженности симптомов) значения DL повышались. Если лекарственное средство не проявляло такую активность, тогда максимальная реакция не превышала 100%. Любое максимальное значение DL, значительно превышающее контрольное значение (приблизительно 100%), указывало на отрицательную активность лекарственного средства.

Леветирацетам и PAM mGluR2/соединение-агонист mGluR2 (например, соединения **2**, **2-a**, **25-a**, **6-b** или **LY-404039**) оценивали в крысиной модели RDBM в соответствии с процедурой, описанной более подробно ниже.

Группы доминантных крыс обрабатывали р.о. QD леветирацетамом 10 мг/кг и соединением PAM mGluR2/соединением-агонистом mGluR2 в разных концентрациях от примерно 0,05 мг/кг ($n \geq 3$), в количестве 0,5 мг/кг ($n \geq 3$), в количестве 2,5 мг/кг ($n \geq 3$), в количестве 5,0 мг/кг ($n \geq 3$) и в количестве 50,0 мг/кг ($n \geq 3$). Одну контрольную группу доминантных крыс с инертным веществом обрабатывали с использованием 0,5% метилцеллюлозы ($n \geq 3$), а вторую контрольную группу доминантных крыс обрабатывали i.p. QD вальпроатом натрия при 30 мг/кг ($n \geq 6$ после 2 исследований $n \geq 3$ каждая).

Все обработки проводили примерно за 1 час до проведения тестирования. Все обработки начинали в субботу после второй

недели тестирования (неделя отбора). Леветирацетам и РАМ mGluR2/соединение-агонист mGluR2 вводили перорально (р.о.).

Если доминантных животных обрабатывали леветирацетамом в дозе 10 мг/кг и соединением РАМ mGluR2/соединением-агонистом mGluR2, то отличие между доминантными и подчиненными животными исчезало после первой или второй недели обработки в зависимости от дозировки. Аналогичным образом, если доминантных животных обрабатывали вальпроатом натрия, то отличие между доминантными и подчиненными крысами также исчезало после первой недели обработки. Могли наблюдать повышение терпимости у доминантных крыс, обработанных леветирацетамом и РАМ mGluR2/соединением-агонистом mGluR2 или вальпроатом натрия. Так, обработанные доминантные крысы разрешали своим подчиненным партнерам увеличить свое время пребывания у кормушки.

Для сравнения разных лекарственных средств и эффектов доз данные нормализовали к исходным значениям контрольной недели. Наиболее сильный эффект комбинации леветирацетама и РАМ mGluR2/соединения-агониста mGluR2 наблюдали в случае, когда было значительное различие значений уровня доминирования (DL) между крысами, обработанными инертным веществом и комбинацией, начиная со второй недели и продолжая на протяжении периода обработки до 5 недель. При сравнении животные (30 мг/кг), которых обрабатывали вальпроатом натрия, устойчиво демонстрировали пониженный уровень доминирования после второй недели обработки, при этом эффект увеличивался в последующие недели.

Для оценки времени до начала действия (АОТ) ежедневные средние значения времени, проведенного у кормушки, для пар доминантного и подчиненного животного наносили на график и рассчитывали значимые различия между этими двумя группами при помощи двустороннего t-критерия.

Для сравнения времени до начала действия (АОТ) между разными обработками время до начала действия оценивали с помощью графика нелинейной регрессии. Модель нелинейной регрессии давала график для каждого лекарственного средства, комбинации и ежедневных значений DL, нормализованных для дозы.

Эффекты леветирацетама и РАМ mGluR2/соединения-агониста

mGluR2 в RDBM потенциально были зависимыми от дозы.

Согласно этому анализу комбинация леветирацетама и PAM mGlu2/соединения-агониста mGluR2 потенциально уменьшала доминантное поведение, что указывало на то, что комбинация является активной в качестве противоманиакального средства.

В) ТАБЛЕТКИ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИЕМА

В качестве конкретного варианта осуществления композиции для перорального приема 100 мг PAM mGluR2/соединения-агониста mGluR2 составляли с достаточно мелкодисперсной лактозой с получением общего количества от 580 до 590 мг для заполнения твердой желатиновой капсулы размера 0.

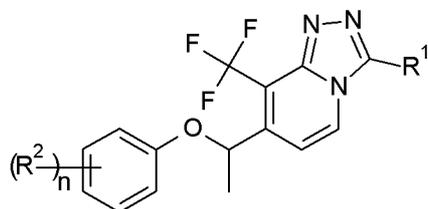
Несмотря на то, что в вышеуказанном описании изложены основные идеи настоящего изобретения, с примерами, приведенными в иллюстративных целях, понятно, что практическое осуществление настоящего изобретения охватывает все обычные варианты, адаптации и/или модификации, которые подпадают под объем приведенной далее формулы изобретения, и их эквиваленты.

ИЗМЕНЁННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинация для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств, невропатической боли, мигрени или устойчивой головной боли, и биполярных и связанных с ними расстройств, содержащая

(а) лиганд белка синаптических везикул 2А ("SV2А"), выбранный из группы, состоящей из леветирацетама, бриварацетама и селетрацетама; и

(б) положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа, представляющий собой соединение формулы (I-B)



(I-B),

или его стереохимически изомерной формы, где

R^1 выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила, (C_3-8 циклоалкил) C_{1-3} алкила и (C_{1-3} алкилокси) C_{1-3} алкила;

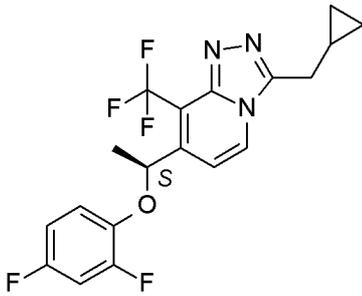
каждый R^2 независимо выбран из F, Cl, C_{1-3} алкила, C_{1-3} алкилокси, моно- или полигалоген- C_{1-3} алкила и моно- или полигалоген- C_{1-3} алкилокси;

n является целым числом, выбранным из 1, 2 и 3;

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

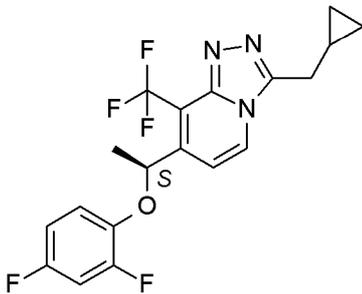
2. Комбинация по п. 1, где лиганд SV2A представляет собой леветирацетам или бриварацетам.

3. Комбинация по пп. 1 или 2, где положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа представляет собой



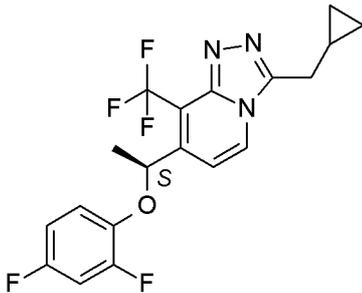
или его хлористоводородную соль.

4. Комбинация по любому из пп. 1-3, где положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа представляет собой



или его хлористоводородную соль, и лиганд SV2A представляет собой леветирацетам.

5. Комбинация по любому из пп. 1-3, где положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа представляет собой



или его хлористоводородную соль, и лиганд SV2A представляет собой бриварацетам.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию по любому из пп. 1-5 и фармацевтически приемлемый носитель.

7. Способ получения фармацевтической композиции по п. 6, где комбинацию по любому из пп. 1-5 тщательно смешивают с фармацевтическим носителем.

8. Препарат, содержащий комбинацию лиганда SV2A и положительного аллостерического модулятора метаботропного

глутаматергического рецептора 2 подтипа по любому из пп. 1-5, для одновременного, отдельного или последовательного применения в лечении или предупреждении эпилепсии и связанных с ней расстройств, невропатической боли, мигрени или устойчивой головной боли, биполярных и связанных с ними расстройств.

9. Препарат по п. 8, где лиганд SV2A и положительный аллостерический модулятор метаботропного глутаматергического рецептора 2 подтипа предназначен для отдельного применения.

10. Применение комбинации по любому из пп. 1-5 для получения лекарственного препарата для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств, невропатической боли, мигрени или устойчивой головной боли, биполярных и связанных с ними расстройств.

11. Применение комбинации по любому из пп. 1-5 для получения лекарственного препарата для предупреждения эпилептогенеза.

12. Применение по п. 10, где лекарственный препарат предназначен для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств.

13. Применение по п. 12, где эпилепсия и связанные с ней расстройства выбраны из парциальных припадков с генерализацией или без нее, миоклонических припадков, первичных генерализованных тонико-клонических припадков и устойчивой к лечению или рефрактерной эпилепсии.

14. Применение по п. 13, где первичные генерализованные тонико-клонические припадки происходят у пациентов с идиопатической генерализованной эпилепсией.

15. Применение по п. 13, где рефрактерная эпилепсия представляет собой рефрактерную парциальную эпилепсию или рефрактерную генерализованную эпилепсию.

16. Применение по п. 12 в качестве нейропротектора.

17. Применение фармацевтической композиции, как определена в п. 6, в качестве лекарственного средства для лечения или предупреждения эпилепсии и связанных с ней расстройств, невропатической боли, мигрени или устойчивой головной боли, и биполярных и связанных с ними расстройств.

18. Применение по п. 17 в лечении или предупреждении эпилепсии и связанных с ней расстройств.

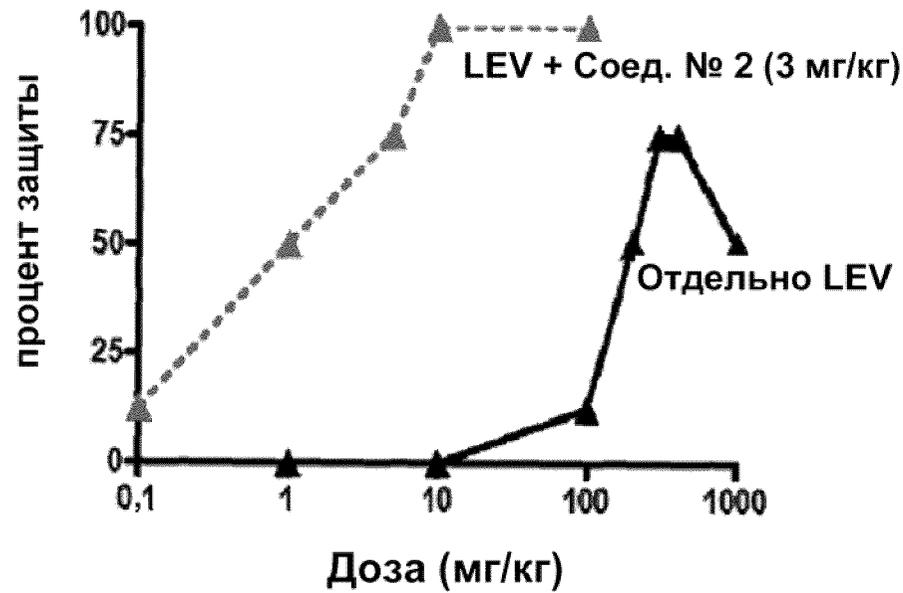
19. Применение по п. 18 в качестве нейропротектора.

20. Применение фармацевтической композиции, как определена в п. 6, в предупреждении эпилептогенеза.

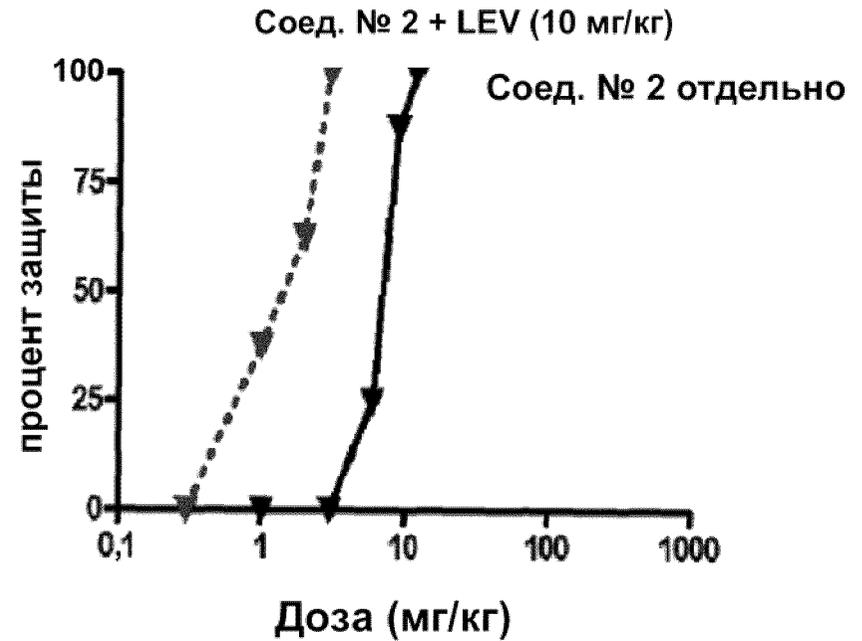
По доверенности

ФИГ. 1

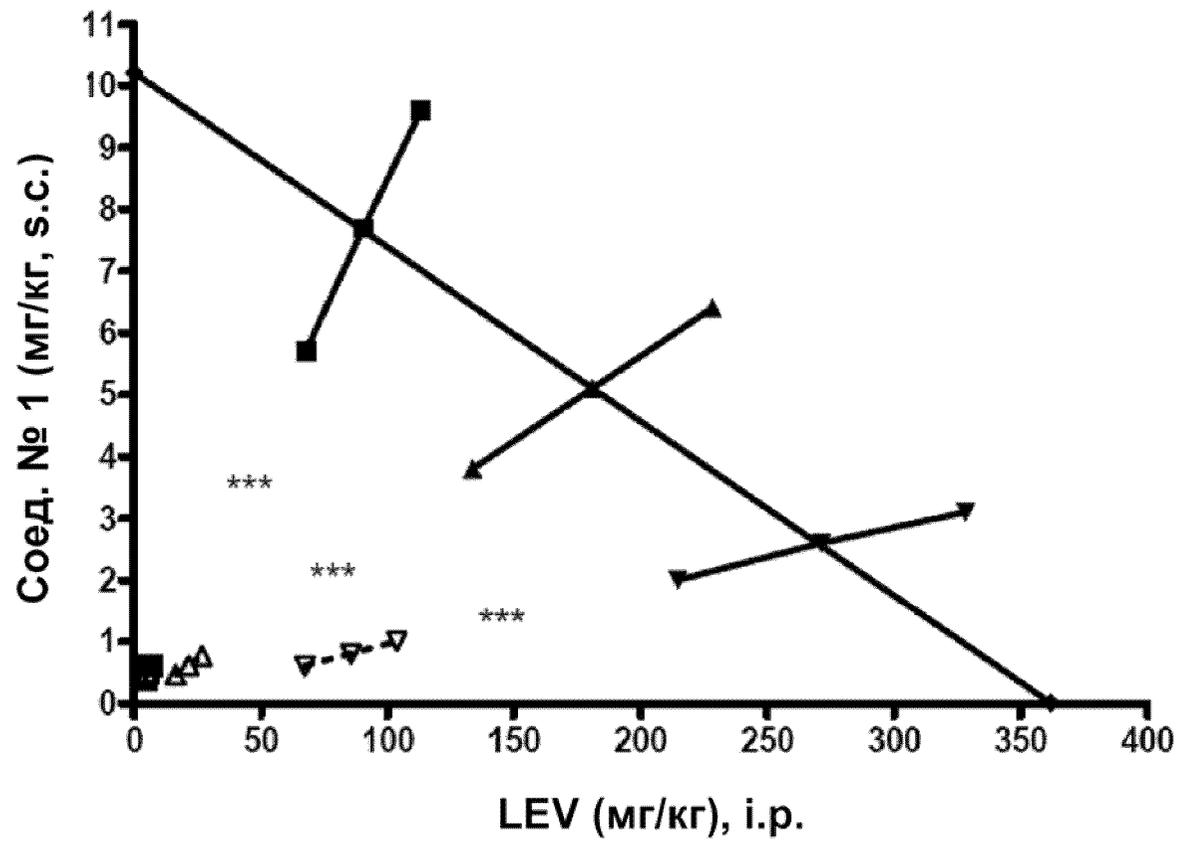
Соед. № 2 повышает активность и эффективность леветирацетама в тесте со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)



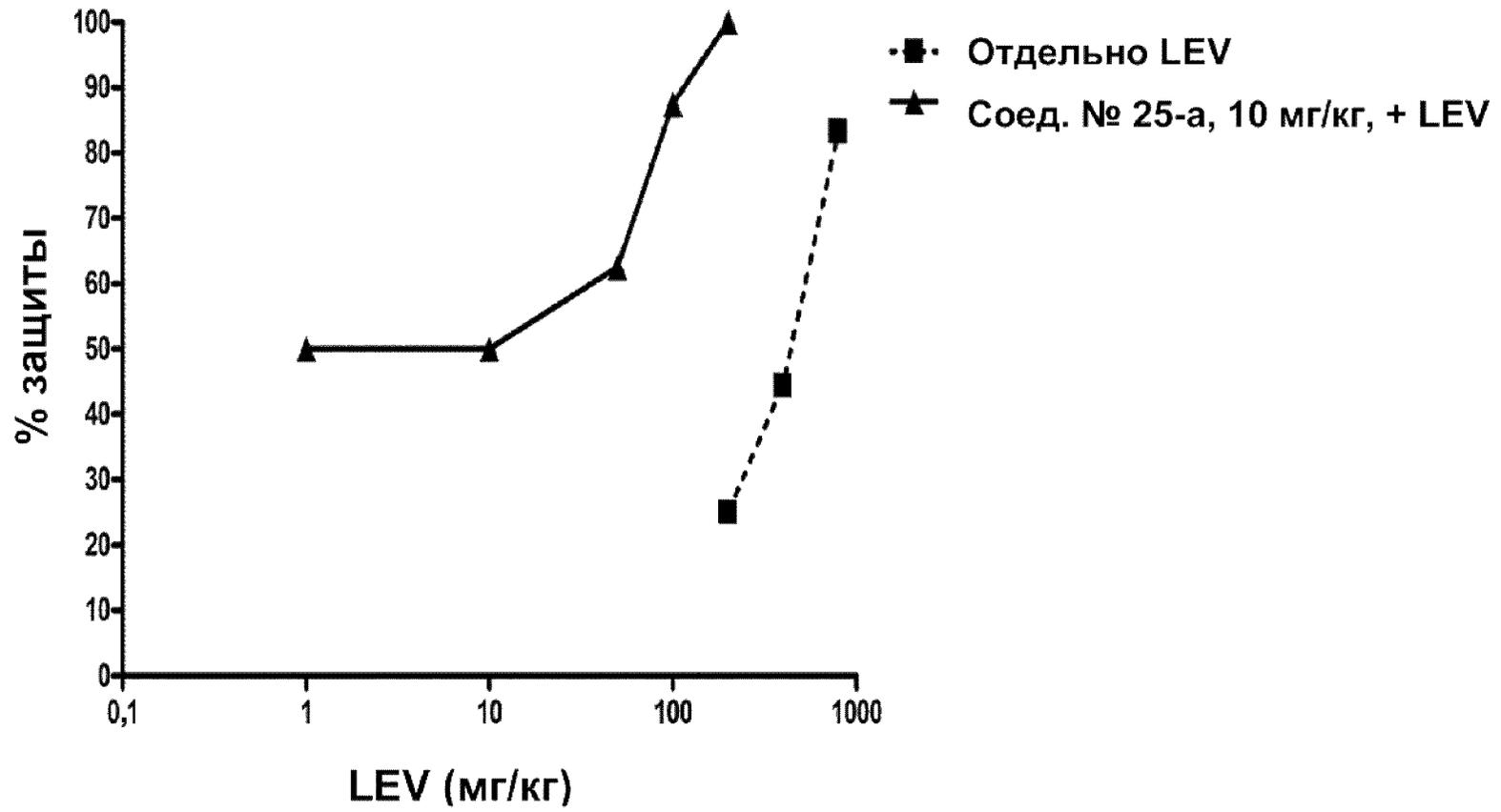
Летевирацетам повышает эффективность соед. № 2 в тесте со стимуляцией в 6 Гц (44 мА)



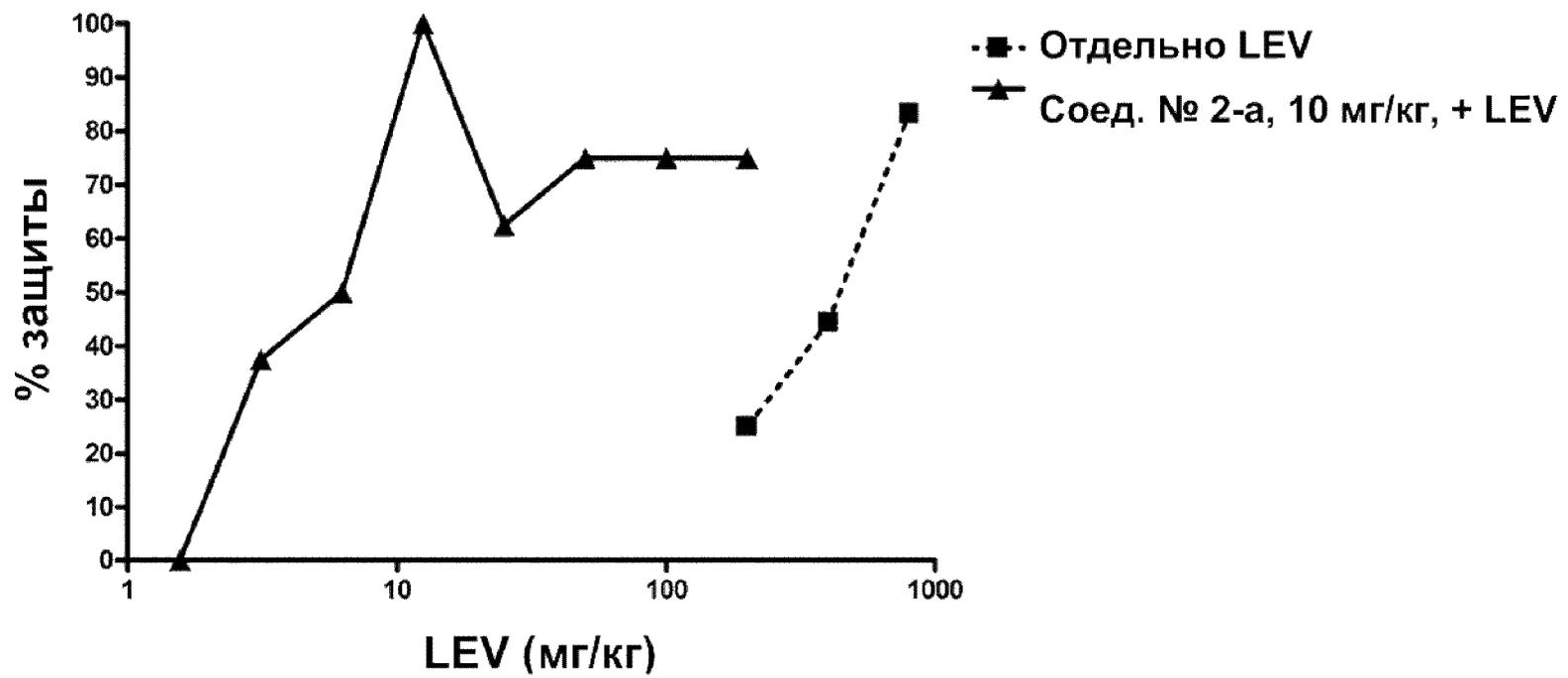
ФИГ. 2



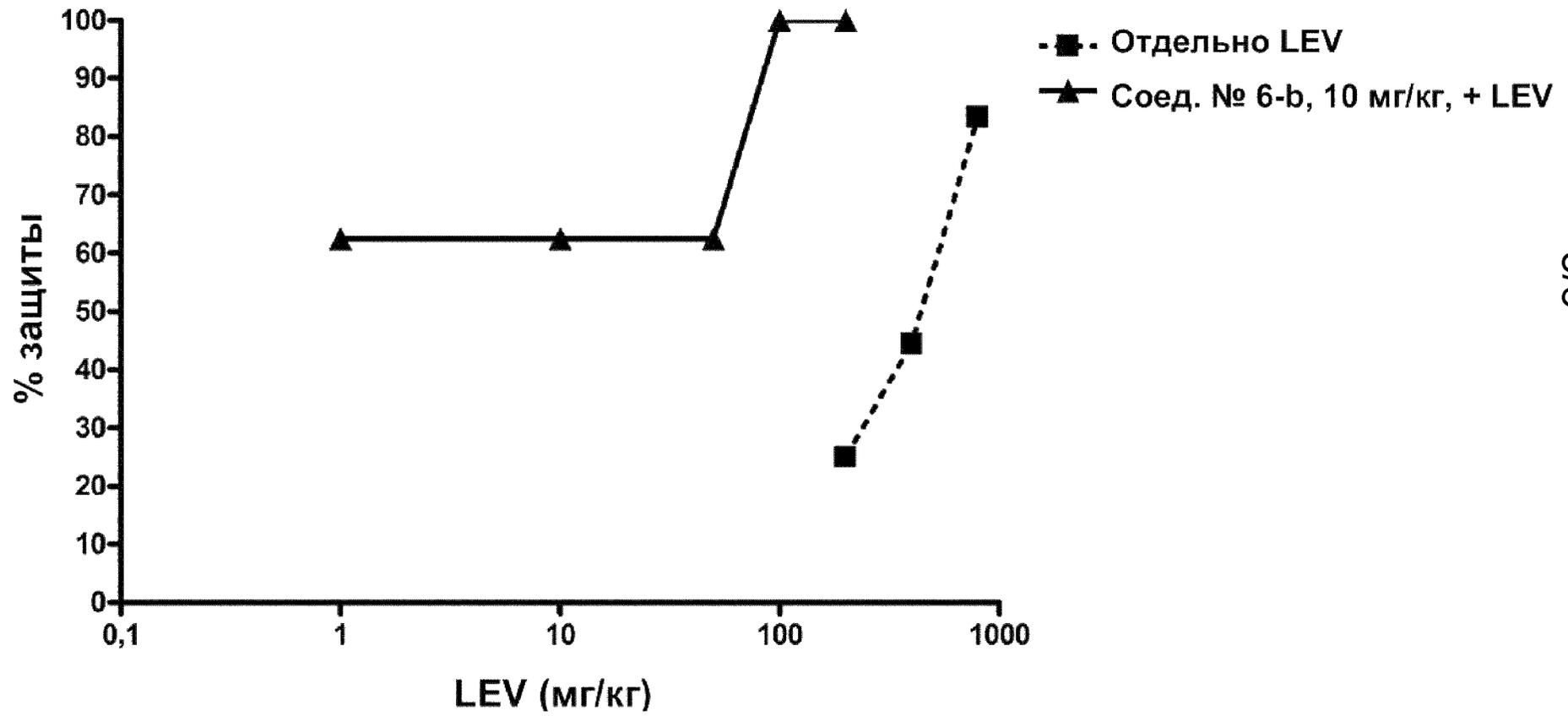
ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6

