

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037275**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.03.03

(51) Int. Cl. **C07D 403/02** (2006.01)

(21) Номер заявки
201790432

(22) Дата подачи заявки
2015.08.28

(54) ЗОНДЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ БЕЛКА ХАНТИНГТИНА

(31) **62/043,644**

(32) **2014.08.29**

(33) **US**

(43) **2017.09.29**

(86) **PCT/US2015/047396**

(87) **WO 2016/033436 2016.03.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИЭЙЧДИЙ ФАУНДЭЙШН, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
**Домингез Селна, Витяк Джон, Бард
Джонатан (US), Браун Кристофер
Джон, Крюлле Томас Мартин, Кларк-
Фрю Дэниел, Хейз Сара (GB)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

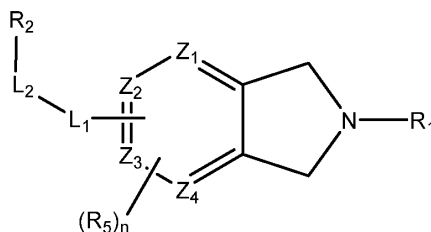
(56) **WO-A1-2013161312**

TU, P et al. "Compounds for imaging amyloid-beta deposits in an Alzheimer's brain: A patent review", Expert Opinion on Therapeutic Patents. March 2015. Vol. 25 (4), pp 413-423, entire document, especially: Figure 3, pg 416.

US-A1-20090123416

LI, S et al. "In Vivo Imaging of the Metabotropic Glutamate Receptor 1 (mGluR1) with Positron Emission Tomography: Recent Advance and Perspective", Current Medicinal Chemistry. January 2014. Vol. 21, pp 113-123, entire document.

(57) Предложен визуализирующий агент, представляющий собой соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль:



(I)

и способ его применения для получения диагностических изображений у субъекта.

B1

037275

037275

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США 62/043 644, поданной 29 августа 2014 г., полное содержание которой полностью включено в данное описание посредством ссылки.

Появление средств молекулярной визуализации, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), позволило проводить количественную оценку молекулярных и клеточных механизмов во всем теле в доклинических и клинических условиях. Такие измерения нашли широкое применение в диагностике, кроме того, быстро расширяется их применение для оценки ответа на лечение и для облегчения разработки лекарственных средств. Недавнее появление технологии молекулярной визуализации с высокой разрешающей способностью рассматривается многими экспертами как серьезный прорыв, который в перспективе может привести к революционной смене парадигмы в области здравоохранения и коренным образом изменить клиническую практику. При проведении ПЭТ субъекту вводят позитронно-излучающий радиофармпрепарат, затем проводят обнаружение излучения позитронов (аннигиляция) в организме. Радиофармпрепарат обычно состоит из молекулы, к которой в качестве метки прикреплены позитрон-излучающие радионуклиды одного или более типов. В настоящее время разрабатывается большое количество новых молекулярных зондов, меченных позитрон-излучающими радионуклидами, и связанных с ними исследований методом ПЭТ-визуализации, направленных на обнаружение, визуализацию и количественную оценку различных внеклеточных и внутриклеточных молекул и процессов, связанных с такими заболеваниями как рак, болезни сердца и неврологические расстройства. Например, синтезированы несколько типов агентов и проведена их оценка в отношении визуализации Р-амилоидных (АР) бляшек у пациентов с болезнью Альцгеймера (БА), включая такие агенты как арилбензотиазолы, стильбены, имидазопиридины, пиридилбензотиазолы, пиридилбензоксазолы и пиридилбензофураны (Swahn et al, *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, 20 (2010) 1976-1980). Кроме того, разработаны производные стирилбензимидазола (SBIM) в качестве агентов для визуализации нейрофибриллярных клубков (NFT), состоящих из гиперфосфорилированного тау-белка, у пациентов с болезнью Альцгеймера. В экспериментах по связыванию с использованием агрегатов рекомбинантного тау и амилоида β_{1-42} ($A\beta_{1-42}$) соединение 4-[(E)-2-(6-йодо-1Н-бензимидазол-2-ил)этинил]-N,N-диметиланилин (SBIM-3) показало более высокую аффинность к агрегатам тау, чем к агрегатам $A\beta_{1-42}$ (отношение значений K_d составляло 2,73). По результатам радиоавтографии и флуоресцентного окрашивания *in vitro* [^{125}I]SBIM-3 (или SBIM-3) связывает NFT в участках ткани мозга пациента с БА. В экспериментах по биораспределению у нормальных мышей все производные [^{125}I]SBIM показали высокое начальное поглощение в мозг (3,20-4,11%ID/г через 2 минуты после инъекции) и быстрое выведение из мозга (0,12-0,33% ID/г через 60 мин после инъекции) (Matsumura et al., *Bioorganic&Medicinal Chemistry*, 21 (2013) 3356-3362).

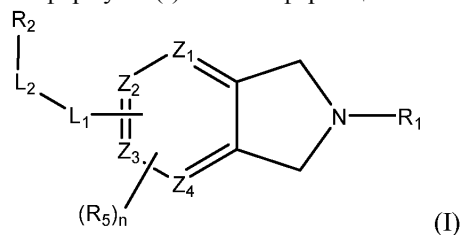
Болезнь Хантингтона (БХ) представляет собой наследственное прогрессирующее нейродегенеративное расстройство, которое характеризуется двигательными, когнитивными и психическими дефектами, а также нейродегенерацией и мозговой атрофией, которые начинаются со стриатума и коры головного мозга и распространяются на другие субкортикальные области головного мозга. Болезнь Хантингтона относится к семейству нейродегенеративных заболеваний, вызванных мутациями, при которых увеличение количества ЦАГ-повторов приводит к удлинению полиглутаминового тракта (polyQ) в кодируемом белке. Указанное семейство также включает дентато-рубро-паллидо-люйсову атрофию (DRPLA), спинальную бульбарную мышечную атрофию (SBMA) и спинально-церебеллярные атаксии (SCA). Вовлеченные белки не являются сходными, за исключением повторов polyQ, и, хотя все они широко экспрессируются в центральной нервной системе и периферических тканях, каждый из них отвечает за характерный вид нейродегенерации. При БХ селективная нейродегенерация проекционных шипиковых нейронов стриатума, выделяющих γ -аминомасляную кислоту, является преобладающей, однако сообщалось также о потерях нейронов во многих других областях мозга. У людей, не страдающих БХ, количество ЦАГ-повторов в гене IT₁₅, который кодирует белок БХ хантингтин (белок НТТ), варьируется от 6 до 35; 36 или более повторов определяют аллель БХ. Количество ЦАГ-повторов обратно коррелирует с возрастом пациента на момент начала заболевания, при этом случаи ювенильной формы болезни Хантингтона характеризуются наличием более 60 повторов. Частота встречаемости ХБ в мире составляет 5-10 случаев на 100000 человек, что делает ХБ наиболее распространенным наследственным нейродегенеративным расстройством. Белок НТТ представляет собой многодоменный белок (348 кДа), содержащий на аминоконце полиморфный глутамин/пролин-обогащенный домен. Длинный polyQ домен, по-видимому, индуцирует конформационные изменения в белке, что вызывает образование внутриклеточных агрегатов указанного белка, которые в большинстве случаев проявляются в виде ядерных включений. Однако такие агрегаты могут образовываться также и вне ядра. Белок НТТ присутствует в ядре и теле клетки, в дендритах и нервных окончаниях нейронов, а также связан с рядом органелл, включая аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум и митохондрии.

В ряде клинических испытаний исследуют средства, которые позволили бы облегчить или уменьшить симптомы и замедлить прогрессирование клинически диагностированной БХ. Как и в случае других заболеваний, лечение лучше всего начинать при появлении первых признаков заболевания или до их

появления. Существуют по меньшей мере две основные проблемы в планировании клинических испытаний для субъектов, у которых еще не развилась БХ: отбор участников, у которых наиболее вероятно появление наблюдаемых изменений во время клинических испытаний, а также разработка средств для оценки результатов, чувствительных к вмешательствам и демонстрирующих изменения, возникающие в ходе естественного развития БХ. Для того чтобы успешно противостоять этим и другим проблемам, связанным с профилактическими клиническими испытаниями, требуются индикаторы очень ранних стадий заболевания.

Поскольку накопление агрегированных форм белка НТТ играет центральную роль в патогенезе БХ, существует потребность в молекулярных зондах, связывающихся с такими аномалиями с высокой чувствительностью и специфичностью, для молекулярной визуализации в живом субъекте с применением ПЭТ. Описанные в настоящем документе соединения отвечают этим и другим потребностям.

Предложен визуализирующий агент для получения диагностических изображений у субъекта, представляющий собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль



где

каждый из Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_4 представляет собой CH;

R_1 представляет собой 6-членный моноциклический гетероарил, содержащий 1 или 2 атома азота, необязательно замещенный одной или двумя группами, независимо выбранными из циано и C_{1-6} алкила, или R_1 представляет собой 2,3-дигидропиридазин-3-он-6-ил, замещенный C_{1-6} алкилом;

L_1 представляет собой O;

L_2 представляет собой $(CH_2)_m$, при этом m представляет собой 1;

R_2 выбран из водорода, C_{6-12} арила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или гетероарила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, где указанный гетероарил представляет собой 5-12-членное ароматическое кольцо, содержащее 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S;

R_5 представляет собой оксо (в качестве заместителя в гетероциклоалкильном кольце);

n представляет собой 0 или 1;

при этом указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами. Также предложен способ получения диагностических изображений тела субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества визуализирующего агента, описанного в настоящем документе, и получение изображения по меньшей мере части тела указанного субъекта.

При использовании в настоящем описании следующие слова, фразы и символы обычно предназначены для того, чтобы иметь указанные ниже значения, за исключением тех случаев, когда в контексте, в котором они использованы, указано иное. Следующие сокращения и термины имеют указанные значения на протяжении всего документа: Тире (" - "), которое не находится между двумя буквами или символами, используется для указания точки присоединения заместителя. Например, $-CONH_2$ присоединен через атом углерода.

При использовании в настоящем документе термины "группа", "радикал" или "фрагмент" относятся к функциональной группе или фрагменту молекулы, присоединяемым к связи или другим фрагментам молекул.

В случае указания диапазона значений (например, C_{1-6} алкил) подразумевается каждое значение в пределах диапазона так же, как и все промежуточные диапазоны. Например, " C_{1-6} алкил" включает C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_{1-6} , C_{2-6} , C_{3-6} , C_{4-6} , C_{5-6} , C_{1-5} , C_{2-5} , C_{3-5} , C_{4-5} , C_{1-4} , C_{2-4} , C_{3-4} , C_{1-3} , C_{2-3} и C_{1-2} алкил.

Когда фрагмент определен как необязательно замещенный, он может быть замещен независимо или как часть другого фрагмента. Например, если R^x определен как " C_{1-6} алкил или OC_{1-6} алкил, где C_{1-6} алкил необязательно замещен галогеном", то галогеном могут быть замещены как C_{1-6} алкильная группа отдельно, так и C_{1-6} алкил, который составляет часть алкильной группы OC_{1-6} .

Термин "алкил" охватывает неразветвленную или разветвленную цепь, содержащую указанное количество атомов углерода, обычно от 1 до 20 атомов углерода, например, от 1 до 8 атомов углерода, например, от 1 до 6 атомов углерода. Так, например, " C_1 - C_6 алкил" охватывает как неразветвленную, так и разветвленную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода. Примеры алкильных групп включают метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, 2-пентил, изопентил, неопентил, гексил, 2-гексил, 3-гексил, 3-метилпентил и подобные. Когда приведено название алкильного остатка, содержащего определенное количество атомов углерода, то подразумевается, что включены все геомет-

рические изомеры, содержащие указанное количество атомов углерода; таким образом, например, "бутил" подразумевает включение н-бутила, втор-бутила, изобутила и трет-бутила; "пропил" включает н-пропил и изопропил. Термин "низший алкил" относится к алкильным группам, содержащим от 1 до 6 атомов углерода.

Термин "алкокси" обозначает алкильную группу с указанным количеством атомов углерода, присоединенную через кислородный мостик, такую как, например, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, пентокси, 2-пентилокси, изопентокси, неопентокси, гексокси, 2-гексокси, 3-гексокси, 3-метилпентокси и подобные. Алкокси-группы обычно содержат от 1 до 6 атомов углерода, присоединенных через кислородный мостик. Термин "низший алкокси" относится к алкокси группам, содержащим от 1 до 6 атомов углерода. Термин "циклоалкокси" означает циклоалкильную группу, которая аналогичным образом присоединена через кислородный мостик.

Термин "алкинил" относится к алкильной группе с ненасыщенной разветвленной или неразветвленной цепью, содержащей указанное количество атомов углерода (например, от 2 до 8 или от 2 до 6 атомов углерода) и по меньшей мере одну тройную связь углерод-углерод, образованную при удалении двух молекул водорода от соседних атомов углерода соответствующего алкила. Алкильные группы включают, но не ограничиваются ими, этинил, пропинил (например, проп-1-ин-1-ил, проп-2-ин-1-ил) и бутинил (например, бут-1-ин-1-ил, бут-1-ин-3-ил, бут-3-ин-1-ил). Термин "низший алкинил" относится к алкильным группам, содержащим от 2 до 6 атомов углерода. Термин "арил" обозначает ароматическое углеродное кольцо, содержащее указанное количество атомов углерода, например, от 6 до 12 или от 6 до 10 атомов углерода. Арильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими). В некоторых случаях оба кольца полициклической арильной группы являются ароматическими (например, нафтил). В других случаях полициклические арильные группы могут содержать неароматическое кольцо (например, циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, гетероциклоалкенил), конденсированное с ароматическим кольцом, при условии, что указанная полициклическая арильная группа связана с исходной структурой через атом в ароматическом кольце. Таким образом, 1,2,3,4-тетрагидронафталин-5-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) считается арильной группой, в то время как 1,2,3,4-тетрагидронафталин-1-ил (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом углерода) не считается арильной группой. Аналогично, 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-8-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) считается арильной группой, в то время как 1,2,3,4-тетрагидрохинолин-1-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом азота) не считается арильной группой. Однако значение термина "арил" не содержит или не охватывает значение термина "гетероарил", независимо от точки присоединения (например, как хинолин-5-ил, так и хинолин-2-ил представляют собой гетероарильные группы). В некоторых случаях арил представляет собой фенил или нафтил. В некоторых случаях арил представляет собой фенил.

Двухвалентные радикалы, образованные из замещенных производных бензола и имеющие свободные валентности у атомов в кольце, обозначены как замещенные фениленовые радикалы. Названия двухвалентных радикалов, образованных путем удаления одного атома водорода от атома углерода со свободной валентностью из одновалентных полициклических углеводородных радикалов, названия которых заканчиваются на "-ил", получают добавлением "-иден" к названию соответствующего одновалентного радикала. Так, например, нафтильная группа с двумя точками присоединения называется нафтилиден.

Термин "циклоалкил" обозначает неароматическое, полностью насыщенное карбоциклическое кольцо, содержащее указанное количество атомов углерода, например, от 3 до 10, от 3 до 8 или от 3 до 6 атомов углерода в кольце. Циклоалкильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими). Примеры циклоалкильных групп включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил, а также мостиковые и каркасные кольцевые группы (например, норборнан, бицикло[2.2.2]октан). Кроме того, одно кольцо полициклической циклоалкильной группы может быть ароматическим, при условии, что указанная полициклическая циклоалкильная группа соединена с исходной структурой через неароматический углерод. Например, 1,2,3,4-тетрагидронафталин-1-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом углерода) представляет собой циклоалкильную группу, в то время как 1,2,3,4-тетрагидронафталин-5-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) не считается циклоалкильной группой. Термин "циклоалкенил" обозначает неароматическое карбоциклическое кольцо, содержащее указанное количество атомов углерода (например, от 3 до 10, или от 3 до 8 или от 3 до 6 атомов углерода в кольце) и по меньшей мере одну двойную связь углерод-углерод, образованную при помощи удаления одной молекулы водорода от соседних атомов углерода соответствующего циклоалкила. Циклоалкенильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими). Примеры циклоалкенильных групп включают циклопропенил, циклобутенил, циклопентенил, циклопентадиенил, циклогексенил, а также мостиковые и каркасные кольцевые группы (например, бицикло[2.2.2]октен). Кроме того, одно

кольцо полициклической циклоалкенильной группы может быть ароматическим, при условии, что указанная полициклическая циклоалкенильная группа соединена с исходной структурой через неароматический атом углерода. Например, инден-1-ил (где указанный фрагмент соединен с исходной структурой через неароматический атом углерода) считается циклоалкенильной группой, в то время как инден-4-ил (где указанный фрагмент соединен с исходной структурой через ароматический атом углерода) не считается циклоалкенильной группой.

Термин "гало-" включает фторо-, хлоро-, бромо- и йодо- и термин "галоген" включает фтор, хлор, бром и йод. Термин "галогеналкил" включает неразветвленные и разветвленные углеродные цепи, содержащие указанное количество атомов углерода (например, от 1 до 6 атомов углерода), замещенных по меньшей мере одним атомом галогена. В тех случаях, когда галогеналкильная группа содержит более одного атома галогена, галогены могут быть одинаковыми (например, дихлорметил) или различными (например, хлорфторметил). Примеры галогеналкильных групп включают, но не ограничиваются ими, хлорметил, дихлорметил, трихлорметил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлорфторметил, 2-фторэтил, 2,2-дифторэтил, 2,2,2-трифторэтил, 1,2-дифторэтил, 2-хлорэтил, 2,2-дихлорэтил, 2,2,2-трихлорэтил, 1,2-дихлорэтил, пентахлорэтил и пентафторэтил. Термин "гетероарил" обозначает ароматическое кольцо, содержащее указанное количество атомов (например, 5-12 или 5-10-членный гетероарил), содержащее один или более гетероатомов (например, 1, 2, 3 или 4 гетероатомов), выбранных из N, O и S, при этом остальные атомы кольца представляют собой углерод. Гетероарильные группы не содержат соседних S и O атомов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения общее число S и O атомов в гетероарильной группе составляет не более 2. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения общее число S и O атомов в гетероарильной группе составляет не более 1. Если не указано иное, гетероарильные группы могут быть связаны с исходной структурой при помощи атома углерода или азота, как это позволяет валентность. Например, "пиридил" включает 2-пиридил, 3-пиридил и 4-пиридил, а "пирролил" включает 1-пирролил, 2-пирролил и 3-пирролил. Когда в гетероарильном кольце присутствует азот, он может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. N⁺-O⁻), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Кроме того, когда в гетероарильном кольце присутствует сера, она может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. S⁺-O⁻ или SO₂), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Гетероарильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими).

В некоторых случаях гетероарильная группа является моноциклической. Примеры включают пиррол, пиазол, имидазол, триазол (например, 1,2,3-триазол, 1,2,4-триазол, 1,3,4-триазол), тетразол, фуран, оксазол, изоксазол, оксадиазол (например, 1,2,3-оксадиазол, 1,2,4-оксадиазол, 1,3,4-оксадиазол), тиофен, изотиазол, тиазол, тиadiaзол (например, 1,2,3-тиadiaзол, 1,2,4-тиadiaзол, 1,3,4-тиadiaзол), пиридин, пиридазин, пиримидин, пиазин, триазин (например, 1,2,4-триазин, 1,3,5-триазин) и тетразин. В некоторых случаях оба кольца полициклической гетероарильной группы являются ароматическими. Примеры включают индол, изоиндол, индазол, бензоимидазол, бензотриазол, бензофуран, бензоксазол, бензоизоксазол, бензоксадиазол, бензотиофен, бензотиазол, бензоизотиазол, бензотиadiaзол, 1Н-пирроло[2,3-b]пиридин, 1Н-пиазоло[3,4-b]пиридин, 3Н-имидазо[4,5-b]пиридин, 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин, 1Н-пирроло[3,2-b]пиридин, 1Н-пиазоло[4,3-b]пиридин, 1Н-имидазо[4,5-b]пиридин, 1Н-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин, 1Н-пирроло[2,3-c]пиридин, 1Н-пиазоло[3,4-c]пиридин, 3Н-имидазо[4,5-c]пиридин, 3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-c]пиридин, 1Н-пирроло[3,2-c]пиридин, 1Н-пиазоло[4,3-c]пиридин, 1Н-имидазо[4,5-c]пиридин, 1Н-[1,2,3]триазоло[4,5-c]пиридин, фуру[2,3-b]пиридин, оксазоло[5,4-b]пиридин, изоксазоло[5,4-b]пиридин, [1,2,3]оксадиазоло[5,4-b]пиридин, фуру[3,2-b]пиридин, оксазоло[4,5-b]пиридин, изоксазоло[4,5-b]пиридин, [1,2,3]оксадиазоло[4,5-b]пиридин, фуру[2,3-c]пиридин, оксазоло[5,4-c]пиридин, изоксазоло[5,4-c]пиридин, [1,2,3]оксадиазоло[5,4-c]пиридин, фуру[3,2-c]пиридин, оксазоло[4,5-c]пиридин, изоксазоло[4,5-c]пиридин, [1,2,3]оксадиазоло[4,5-c]пиридин, тиено[2,3-b]пиридин, тиазоло[5,4-b]пиридин, изотиазоло[5,4-b]пиридин, [1,2,3]тиadiaзоло[5,4-b]пиридин, тиено[3,2-b]пиридин, тиазоло[4,5-b]пиридин, изотиазоло[4,5-b]пиридин, [1,2,3]тиadiaзоло[4,5-b]пиридин, тиено[2,3-c]пиридин, тиазоло[5,4-c]пиридин, изотиазоло[5,4-c]пиридин, [1,2,3]тиadiaзоло[5,4-c]пиридин, тиено[3,2-c]пиридин, тиазоло[4,5-c]пиридин, изотиазоло[4,5-c]пиридин, [1,2,3]тиadiaзоло[4,5-c]пиридин, хинолин, изохинолин, циннолин, хиназолин, хиноксалин, фталазин, нафтиридин (например, 1,8-нафтиридин, 1,7-нафтиридин, 1,6-нафтиридин, 1,5-нафтиридин, 2,7-нафтиридин, 2,6-нафтиридин), имидазо[1,2-a]пиридин, 1Н-пиазоло[3,4-d]тиазол, 1Н-пиазоло[4,3-d]тиазол и имидазо[2,1-b]тиазол.

В других случаях полициклические гетероарильные группы могут включать неароматическое кольцо (например, циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкил, гетероциклоалкенил), конденсированное с гетероарильным кольцом, при условии, что указанная полициклическая гетероарильная группа связана с исходной структурой через атом в ароматическом кольце. Например, 4,5,6,7-тетрагидробензо[d]тиазол-2-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) считается гетероарильной группой, в то время как 4,5,6,7-тетрагидробензо[d]тиазол-5-ил (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом углерода) не считается гетероарильной группой. Термин "гетероциклоалкил" обозначает неароматическое полностью насыщенное кольцо, содержащее указанное количество атомов (например, 3-10 или 3-7-членный гетероциклоалкил),

содержащее один или более гетероатомов (например, 1, 2, 3 или 4 гетероатомов), выбранных из N, O и S, при этом остальные атомы кольца представляют собой углерод. Гетероциклоалкильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими). Примеры моноциклических гетероциклоалкильных групп включают оксиранил, азиридирил, азетидинил, пирролидинил, имидазолидинил, пиразолидинил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил и тиоморфолинил.

Когда в гетероциклоалкильном кольце присутствует азот, он может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. N^+-O^-), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Примеры включают пиперидинил N-оксид и морфолинил N-оксид. Кроме того, когда в гетероалкильном кольце присутствует сера, она может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. S^+-O^- или $-SO_2-$), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Примеры включают тиоморфолин S-оксид и тиоморфолин S,S-диоксид. Кроме того, одно кольцо полициклической гетероциклоалкильной группы может быть ароматическим (например, арил или гетероарил), при условии, что указанная полициклическая гетероциклоалкильная группа соединена с исходной структурой через неароматический атом углерода или азота. Например, 1,2,3,4-тетрагидрохиолин-1-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом азота) считается гетероциклоалкильной группой, в то время как 1,2,3,4-тетрагидрохиолин-8-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) не считается гетероциклоалкильной группой.

Термин "гетероциклоалкенил" обозначает неароматическое кольцо, содержащее указанное количество атомов (например, 3-10 или 3-7-членный гетероциклоалкил), содержащее один или более гетероатомов (например, 1, 2, 3 или 4 гетероатомов), выбранных из N, O и S, при этом остальные атомы в кольце представляют собой углерод, и содержащее по меньшей мере одну двойную связь, образованную при удалении одной молекулы водорода от соседних атомов углерода, соседних атомов азота или соседних атомов углерода и азота соответствующего гетероциклоалкила. Гетероциклоалкенильные группы могут быть моноциклическими или полициклическими (например, бициклическими, трициклическими). Когда в гетероциклоалкенильном кольце присутствует азот, он может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. N^+-O^-), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Кроме того, когда в гетероалкенильном кольце присутствует сера, она может присутствовать в окисленном состоянии (т.е. S^+-O^- или $-SO_2-$), если это позволяет природа соседних атомов и групп. Примеры гетероциклоалкенильных групп включают дигидрофуранил (например, 2,3-дигидрофуранил, 2,5-дигидрофуранил), дигидротииофенил (например, 2,3-дигидротииофенил, 2,5-дигидротииофенил), дигидропирролил (например, 2,3-дигидро-1Н-пирролил, 2,5-дигидро-1Н-пирролил), дигидроимидазолил (например, 2,3-дигидро-1Н-имидазолил, 4,5-дигидро-1Н-имидазолил), пиранил, дигидропиранил (например, 3,4-дигидро-2Н-пиранил, 3,6-дигидро-2Н-пиранил), тетрагидропиридинил (например, 1,2,3,4-тетрагидропиридинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридинил) и дигидропиридин (например, 1,2-дигидропиридин, 1,4-дигидропиридин). Кроме того, одно кольцо полициклической гетероциклоалкенильной группы может быть ароматическим (например, арил или гетероарил), при условии, что указанная полициклическая гетероциклоалкенильная группа соединена с исходной структурой через неароматический атом углерода или азота. Например, 1,2-дигидрохиолин-1-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через неароматический атом азота) считается гетероциклоалкенильной группой, в то время как 1,2-дигидрохиолин-8-ильная группа (где указанный фрагмент связан с исходной структурой через ароматический атом углерода) не считается гетероциклоалкенильной группой. Термин "необязательно" или "возможно" означает, что описанное впоследствии событие или обстоятельство может произойти или может не произойти, и что описание включает случаи, когда указанное событие или обстоятельство имеет место, и случаи, в которых указанное событие или обстоятельство не имеет места. Например, "необязательно замещенный алкил" охватывает как "алкил", так и "замещенный алкил", как определено в настоящем документе. Специалистам в данной области техники будет понятно, что любая группа, содержащая один или несколько заместителей, не предназначена для введения какого-либо замещения или моделей замещения, которые являются стерически нецелесообразными, неосуществимыми с точки зрения синтеза и/или нестабильными.

Термин "замещенный" при использовании в настоящем документе означает, что любой один или несколько атомов водорода при указанном атоме или группе замещен заместителем, выбранным из указанной группы, при условии, что нормальная валентность указанного атома не превышена. Если заместитель представляет собой оксо (т.е. $=O$), то при указанном атоме заменены 2 атома водорода. Комбинации заместителей и/или переменных допустимы только в том случае, если такие комбинации приводят к получению стабильных соединений или полезных промежуточных продуктов синтеза. Стабильное соединение или стабильная структура подразумевает соединение, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать выделение из реакционной смеси и последующее приготовление в качестве агента, имеющего, по меньшей мере, практическое применение. Если не указано иное, заместители названы в основной структуре. Например, следует понимать, что когда (циклоалкил)алкил указан в качестве возможного заместителя, точка присоединения этого заместителя к основной структуре находится в алкильной части.

Термин "замещенный amino" также относится к группе $-NR^eR^f$, где R^e и R^f совместно с атомом азота, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-7-членный азотсодержащий

неароматический гетероцикл, который необязательно содержит 1 или 2 дополнительных гетероатома, выбранных из азота, кислорода и серы.

Термин "аминокарбонил" охватывает группу формулы $-(C=O)$ (необязательно замещенный amino), где замещенный amino такой, как описано в настоящем документе. Соединения, описанные в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, их оптические изомеры, рацематы и другие смеси указанных веществ. В таких ситуациях указанные отдельные энантиомеры или диастереоизомеры, т.е. оптически активные формы можно получить при помощи асимметрического синтеза или расщепления рацематов. Расщепление рацематов можно осуществлять, например, с помощью обычных способов, таких как кристаллизация в присутствии расщепляющего агента или при помощи хроматографии, с использованием, например, хиральной жидкостной хроматографии высокого давления (ВЭЖХ). Термин "изомеры" относится к различным соединениям, которые имеют одну и ту же молекулярную формулу. Термин "стереоизомеры" относится к изомерам, которые отличаются только способом расположения атомов в пространстве. Термин "энантиомеры" относится к стереоизомерам, представляющим собой зеркальные отражения друг друга, не совмещаемые в пространстве. Смесь пары энантиомеров 1:1 представляет собой "рацемическую" смесь. Символ " $(\pm)$ " может быть использован для обозначения рацемической смеси, где это необходимо. Термин "диастереоизомеры" относится к стереоизомерам, которые имеют по меньшей мере два асимметрических атома, но которые не являются зеркальными отражениями друг друга. Абсолютная стереохимия указана в соответствии с системой обозначений Кана-Ингольда-Прелога (R-S система). Когда соединение представляет собой чистый энантиомер, стереохимия каждого хирального атома углерода может быть обозначена при помощи R или S. Расщепленные соединения, чья абсолютная конфигурация неизвестна, можно обозначить (+) или (-) в зависимости от направления (с правым или левым вращением), в котором они вращают плоскость поляризации плоскополяризованного света при длине волны D-линии натрия. В случаях когда соединение, описанное в настоящем документе, существует в различных таутомерных формах, термин "соединение" включает все таутомерные формы указанного соединения. Такие соединения также включают кристаллические формы, включая полиморфы и клатраты. Аналогично, термин "соль" включает все таутомерные формы и кристаллические формы указанного соединения. Термин "таутомеры" относится к структурно различным изомерам, которые могут переходить друг в друга при таутомеризации. Таутомеризация представляет собой форму изомеризации и включает прототропную таутомеризацию или таутомеризацию с изменением положения протона, которая считается подразделом химии кислот и оснований. Прототропная таутомеризация или таутомеризация с изменением положения протона включает миграцию протона, сопровождающуюся изменениями порядка связей, часто перестановкой одинарной связи и соседней двойной связи. В случаях когда возможна таутомеризация (например, в растворе), можно достигать химического равновесия таутомеров. Примером таутомеризации является кето-енольная таутомеризация. Конкретным примером кето-енольной таутомеризации является взаимопревращение таутомеров пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она. Другим примером таутомеризации является фенол-кетонная таутомеризация. Конкретным примером фенол-кетонной таутомеризации является взаимопревращение таутомеров пиридин-4-ола и пиридин-4(1H)-она. Фармацевтически приемлемые формы соединений, приведенные в настоящем документе, включают фармацевтически приемлемые соли и их смеси. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединения, описанные в настоящем документе, присутствуют в форме фармацевтически приемлемых солей. Термин "фармацевтически приемлемые соли" включает, но не ограничивается ими: соли с неорганическими кислотами, такие как гидрохлорат, фосфат, дифосфат, гидробромат, сульфат, сульфат, нитрат и подобные соли; а также соли с органическими кислотами, такие как малат, малеат, фумарат, тартрат, сукцинат, цитрат, лактат, метансульфонат, п-толуолсульфонат, 2-гидроксиэтилсульфонат, бензоат, салицилат, стеарат, галогеналканоеат, такой как трифторацетат, и алканоеат, такой как ацетат, $HOOC-(CH_2)_n-COOH$, где n представляет собой 0-4, и подобные соли. Аналогичным образом фармацевтически приемлемые катионы включают, но не ограничиваются ими: натрий, калий, кальций, алюминий, литий и аммоний. Кроме того, если описанные в настоящем документе соединения получают в виде соли присоединения кислоты, свободное основание можно получить путем подщелачивания раствора кислой соли. И наоборот, если продукт представляет собой свободное основание, аддитивную соль, в частности, фармацевтически приемлемую аддитивную соль можно получить при помощи растворения свободного основания в подходящем органическом растворителе и обработки указанного раствора кислотой, в соответствии с обычными способами получения соли присоединения кислоты из основных соединений. Специалистам в данной области техники будут понятны различные синтетические способы, которые можно использовать для получения нетоксичных фармацевтически приемлемых солей присоединения.

Термин "введение", используемый в настоящем документе в сочетании с диагностическим агентом, таким как, например, соединение, помеченное излучателем позитронов, описанное в настоящем документе, означает непосредственно введение внутрь или на целевую ткань или введение диагностического агента пациенту системно, при этом указанный диагностический агент применяют для визуализации ткани или патологии, связанной с тканью, на которую направлен указанный агент. "Введение" композиции можно выполнить при помощи инъекции, инфузии или при помощи любого из этих способов в соче-

тании с другими известными способами.

Термин "Кюри" (Ки) является единицей измерения радиоактивности. 1 Ки относится к такому количеству любого радиоактивного материала, которое будет распадаться со скоростью $3,7 \times 10^{10}$ распадов в секунду. Термин "миллиКюри" (мКи) относится к 10^{-3} кюри. Следует понимать, что единицей измерения радиоактивности согласно Международной системе единиц (система единиц СИ) является Беккерель, равный одному распаду в секунду. Таким образом, один Беккерель = $2,7 \times 10^{-11}$ кюри. Термин "диагностическая визуализация" при использовании в настоящем документе относится к применению электромагнитного излучения для получения изображения внутренних структур тела человека или животного с целью диагностики. Термин "эффективное количество" соединения при использовании в настоящем документе представляет собой заданное количество, рассчитанное так, чтобы достигался желаемый эффект, например, количество, достаточного для получения желаемого изображения целевого органа субъекта. В некоторых случаях целевым органом является мозг.

Термин "белок хантингтин" или "белок НТТ" при использовании в настоящем документе относится к белку, закодированному геном хантингтина человека (ген НТТ), расположенным на коротком (p) плече хромосомы 4 в положении 16.3. Более точно, ген IT15, кодирующий белок НТТ, расположен между парами оснований 3076407 и парами оснований 3245686 на хромосоме 4.

Термин "агрегат белка НТТ" при использовании в настоящем документе относится к нерастворимому волокнистому амилоиду, содержащему неправильно свернутые молекулы белка НТТ.

Термин "β-амилоидные агрегаты" при использовании в настоящем документе относится к нерастворимому волокнистому амилоиду, содержащему неправильно свернутые молекулы β-амилоидного белка.

Термин "визуализирующий агент" при использовании в настоящем документе относится к соединению, как описано в настоящем документе, помеченному одним или несколькими позитрон-излучающими изотопами или радионуклидами. Соединение, помеченное излучателем позитронов, необходимо лишь обогатить пригодным для обнаружения изотопом до такой степени, которая позволяет обнаружение методом, подходящим для конкретного применения.

Термин "патологический процесс" при использовании в настоящем документе относится к измененному эндогенному биологическому процессу, который может быть связан с аномальным производством и/или функционированием белков, пептидов, РНК и других веществ, связанных с таким биологическим процессом.

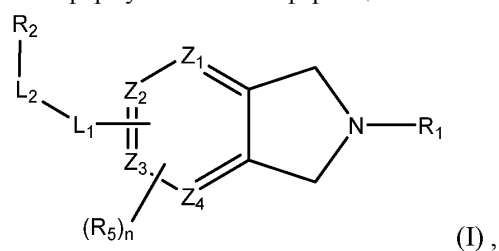
Термин "ПЭТ-визуализация" при использовании в настоящем документе относится к применению соединения, помеченного излучателем позитронов, для получения изображений внутренних структур тела человека или животного.

Термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции, содержащей по меньшей мере один визуализирующий агент, описанный в настоящем документе, при этом указанная композиция пригодна для исследования для определенного эффективного результата у млекопитающего (например, без ограничения, у человека). Специалисты в данной области техники поймут и оценят методы, подходящие для определения того, имеет ли композиция желаемый эффективный результат, на основании потребностей специалиста.

Термин "позитрон-излучающие радионуклиды" при использовании в настоящем документе относится к радиоактивному изотопу, который проявляет конкретный тип радиоактивного распада, который называют β⁺ распадом, при котором протон внутри ядра радионуклида превращается в нейтрон при высвобождении позитрона и электронного нейтрино (ν_e). Некоторые примеры позитрон-излучающих радионуклидов включают ¹⁵O, ¹³N, ¹¹C, ¹⁸F, ⁷⁶Br и ¹²⁴I. Эти радионуклиды имеют периоды полураспада примерно 2, 10, 20, 110 мин, 16 ч и 4,2 дней, соответственно.

Термин "томография" при использовании в настоящем документе относится к способу формирования изображения по секциям. Изображения можно рассматривать по отдельности, как серию двумерных срезов или совместно как сгенерированное компьютером трехмерное изображение.

Предложен визуализирующий агент для получения диагностических изображений у субъекта, представляющий собой соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль:



где

каждый из Z₁, Z₂, Z₃ и Z₄ представляет собой CH;

R₁ представляет собой 6-членный моноциклический гетероарил, содержащий 1 или 2 атома азота,

необязательно замещенный одной или двумя группами, независимо выбранными из циано и C_{1-6} алкила, или R_1 представляет собой 2,3-дигидропиридазин-3-он-6-ил, замещенный C_{1-6} алкилом;

L_1 представляет собой O;

L_2 представляет собой $(CH_2)_m$, при этом m представляет собой 1;

R_2 выбран из водорода, C_{6-12} арила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или гетероарила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, где указанный гетероарил представляет собой 5-12-членное ароматическое кольцо, содержащее 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S;

R_5 представляет собой оксо (в качестве заместителя в гетероциклоалкильном кольце);

n представляет собой 0 или 1;

при этом указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения R_1 выбран из пиридин-4-ила, пиридин-2-ила, пиридин-3-ила, пиримидин-4-ила, 5-циано-пиримидин-4-ила, 3-циано-пиридин-4-ила, 3-циано-пиридин-6-ила, 3-циано-пиридин-2-ила, 2-циано-пиридин-4-ила и 4-циано-пиридин-3-ила.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой 2,3-дигидропиридазин-3-он-6-ил, замещенный C_{1-6} алкилом. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения R_2 выбран из C_{6-12} арила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или гетероарила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения R_2 выбран из фенила, пиридин-2-ила, пиримидин-5-ила, пиримидин-5-ила, пиримидин-5-ила, каждый из которых необязательно замещен гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или R_2 представляет собой водород.

Также предложен визуализирующий агент, представляющий собой соединение формулы I, выбранное из

2-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила;

2-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

2-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиримидин-5-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-

карбонитрила;

4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила; и

4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

или его фармацевтически приемлемой соли, при этом указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами.

Также предложен визуализирующий агент, представляющий собой соединение формулы I, выбранное из

2-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила;

2-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

2-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиримидин-5-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-

карбонитрила;

4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила;

4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

5-{5-[(5-метокси-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1Н-изоиндола};

4-[5-(бензилокси)-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил]пиримидин-5-карбонитрила;

4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-

карбонитрила;

6-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-2-ил}-2-метил-2,3-

дигидропиридазин-3-она,

или его фармацевтически приемлемой соли, при этом указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами.

Указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами. Подходящие позитрон-излучающие радионуклиды, которые можно включать в соединения, описанные в настоящем документе, выбраны из ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O и ^{18}F .

Неметаллические радионуклиды могут быть ковалентно связаны с соединениями, описанными в настоящем документе, при помощи взаимодействия, хорошо известного из уровня техники. Когда радионуклид представляет собой излучающий позитроны металл, следует понимать, что для маркировки

может потребоваться применение хелатирующего агента. Такие хелатирующие агенты хорошо известны из уровня техники. Визуализирующий агент для ПЭТ можно маркировать излучателем позитронов ^{11}C или ^{18}F . Способы введения в качестве метки ^{11}C могут включать, но не ограничиваются ими, алкилирование при помощи ^{11}C йодметана или ^{11}C метилтрифлата. Изотоп ^{11}C имеет период полураспада примерно 20 минут, таким образом, ^{11}C необходимо получать в циклотроне на месте, и обычно его получают в виде ^{11}C диоксида углерода. Указанный ^{11}C диоксид углерода превращают в химические соединения, подходящие для радиохимического синтеза (обычно ^{11}C йодметан или подобное), завершают синтез радиофармацевтического препарата и применяют его на месте в исследовании ПЭТ после определения соответствующий радиохимической чистоты и специфической активности. Типичные способы введения ^{18}F в качестве метки могут включать, но не ограничиваются ими: смещение галогенидной, тозилатной или другой уходящей группы, содержащей ^{18}F фторид тетрабутиламмония или ^{18}F фторид калия Kgru-tofix-222. Период полураспада фтора-18 составляет примерно 110 мин, следовательно, нет необходимости в том, чтобы синтезировать ^{18}F -радиофармпрепараты непременно там же, где расположен циклотрон или непосредственно в том центре, где производится ПЭТ исследование. Общие методы введения этих позитронных излучателей описаны в литературе (Miller et al., *Angewandte Chemie International Edition*, 47 (2008), 8998-9033). В настоящем изобретении предложены способы получения диагностических изображений тела субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества визуализирующего агента, описанного в настоящем документе, и получение изображения по меньшей мере части тела указанного субъекта.

Также предложены способы получения диагностических изображений в биологическом образце, включающие приведение биологического образца в контакт с эффективным количеством визуализирующего агента, описанного в настоящем документе, и получение изображения меченного позитронным излучателем соединения, связанного с биологическим образцом. В указанном способе приведение в контакт и получение изображения можно проводить *in vitro*; или альтернативно приведение в контакт проводят *in vivo*, а получение изображения проводят *in vitro*. Также предложены способы обнаружения наличия или отсутствия нейродегенеративного патологического процесса, связанного с белком хантингтином (НТТ белком) у субъекта, включающие: введение эффективного количества соединения, меченного излучателем позитронов, описанного в настоящем документе; получения изображения с обнаружением наличия или отсутствия агрегатов белка НТТ в мозге человека; и обнаружение наличия или отсутствия патологического процесса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агрегаты белка НТТ присутствуют в базальных ганглиях головного мозга субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный патологический процесс представляет собой болезнь Хантингтона (БХ). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет от примерно 0,1 до примерно 20 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет примерно 10 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное получение изображения включает позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), ПЭТ, совмещенную с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), ПЭТ, совмещенную с магнитно-резонансной томографией (ПЭТ/МРТ), или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения получение изображения включает ПЭТ-визуализацию.

Также в настоящем документе предложены диагностические способы с применением визуализирующих агентов для мониторинга прогрессирования заболевания у пациента путем количественного измерения изменений уровня целевых агрегатов у пациента.

Также предложены способы обнаружения наличия или отсутствия нейродегенеративного патологического процесса, связанного с белком хантингтином (НТТ белком), у субъекта, включающие: введение эффективного количества соединения, меченного излучателем позитронов, описанного в настоящем документе; получения изображения с обнаружением наличия или отсутствия агрегатов белка НТТ у субъекта; и обнаружение наличия или отсутствия патологического процесса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агрегаты или мономеры белка НТТ присутствуют в головном мозге, печени, сердце или мышцах указанного субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агрегаты белка НТТ присутствуют в базальных ганглиях, коре головного мозга, гиппокампе или в стволе головного мозга субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный патологический процесс представляет собой болезнь Хантингтона (БХ). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет от примерно 0,1 до примерно 20 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет примерно 10 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное получение изображения включает позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), ПЭТ, совмещенную с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), ПЭТ, совмещенную с магнитно-резонансной томографией (ПЭТ/МРТ), или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения получение изображения включает визуализацию

ПЭТ-визуализацию.

Также предложены способы обнаружения наличия или отсутствия нейродегенеративного патологического процесса, связанного с β -амилоидным белком, у субъекта, включающие: введение эффективного количества соединения, меченного излучателем позитронов, описанного в настоящем документе; получения изображения с обнаружением наличия или отсутствия агрегатов β -амилоидного белка у субъекта; и обнаружение наличия или отсутствия патологического процесса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агрегаты или мономеры β -амилоидного белка присутствуют в головном мозге, печени, сердце или мышцах указанного субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агрегаты β -амилоидного белка присутствуют в базальных ганглиях, коре головного мозга, гиппокампе или в стволе головного мозга субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный патологический процесс представляет собой болезнь Хантингтона (БХ). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет от примерно 0,1 до примерно 20 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет примерно 10 мКи. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное получение изображения включает позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), ПЭТ, совмещенную с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), ПЭТ, совмещенную с магнитно-резонансной томографией (ПЭТ/МРТ), или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения получение изображения включает ПЭТ-визуализацию.

В настоящем документе описаны соединения, имеющие кинетику связывания с агрегатами НТТ белка или β -амилоидного белка, подходящую для того, чтобы функционировать в качестве эффективных визуализирующих агентов для агрегатов НТТ белка или агрегатов β -амилоидного белка. К соединениям согласно настоящему изобретению, которые будут действовать как эффективные визуализирующие агенты для агрегатов НТТ белка, предъявляются следующие требования: 1) высокое сродство к агрегатам белка НТТ; 2) низкое сродство к близлежащим структурам; 3) медленная кинетика диссоциации из агрегатов белка НТТ, что удобно выражать через константу скорости диссоциации k_{diss} , определенную в нижеследующей формуле, где А и В относятся к агрегату белка НТТ и к визуализирующему агенту, а k_{assn} представляет собой константу скорости ассоциации.

$$d[AB]/dt = k_{\text{assn}}[A][B] - k_{\text{diss}}[AB]$$

Часть мозга, которая наиболее подвержена БХ и, следовательно, наиболее вероятно будет содержать НТТ белковые аномалии, представляет собой группу нервных клеток у основания мозга, известную под общим названием базальных ганглиев. Базальные ганглии ответственны за движения тела, которыми управляют мышцы, или "моторные движения". Основными компонентами базальных ганглиев являются хвостатое ядро и скорлупа (вместе известные как стриатум) и бледный шар (внешние и внутренние оболочки). В состав базальных ганглиев часто также включают черную субстанцию и субталамическое ядро.

Термин "базальные ганглии" относится к группе подкорковых ядер, отвечающих в первую очередь за управление движениями, а также имеющих другие роли, такие как двигательное обучение, исполнительные функции и поведение, а также эмоции. Нарушения в сети базальных ганглиев лежат в основе нескольких двигательных расстройств. Для нормальной функции базальных ганглиев требуется тонкая настройка возбудимости нейронов внутри каждого ядра, чтобы определить точную степень усиления или торможения движения в каждый конкретный момент. Это обеспечивается посредством комплексной организации стриатума, где возбудимость средних шипиковых нейронов контролируется несколькими пред- и постсинаптическими механизмами и интернейронной активностью, а также обеспечивается несколькими рекуррентными или внутренними цепями базальных ганглиев. Моторная цепь базальных ганглиев имеет две точки входа, стриатум и субталамическое ядро, а также выход, внутреннюю часть бледного шара, который соединен с корой головного мозга через моторный таламус. В настоящем документе предложены способы визуализации части мозга субъекта, включающие введение соединения, меченного излучателем позитронов, описанного в настоящем документе, субъекту, например, в сосудистую систему субъекта, откуда указанное соединение проходит через гематоэнцефалический барьер, и последующего получения изображения по меньшей мере части головного мозга субъекта, в которой распределено указанное соединение.

Также предложены фармацевтические композиции, содержащие эффективное количество соединения, меченного излучателем позитронов, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, совместно с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, наполнителями или разбавителями.

Визуализирующий агент или его фармацевтическую композицию можно вводить субъекту, нуждающемуся в лечении, любым подходящим путем введения. Пути введения могут включать, например, парентеральное введение (в том числе подкожное, внутримышечное, внутривенное, при помощи, например, капельного вливания). Другие пригодные пути введения включают (но не ограничиваются ими): пероральное, ректальное, назальное, местное (в том числе трансбуккальное и сублингвальное), инфузию,

вагинальное, внутрикожное, интраперитонеальное, интракраниальное, интратекальное и эпидуральное введение или введение путем пероральной или назальной ингаляции, при помощи, например, распылителя или ингалятора или с помощью имплантата.

Визуализирующий агент или его фармацевтическую композицию можно также вводить при помощи микросфер, липосом, других систем доставки, микрочастиц или составов с замедленным высвобождением, помещенных в некоторые ткани, включая кровь. Подходящие примеры носителей с замедленным высвобождением включают полупроницаемые полимерные матрицы в виде известных изделий, например, суппозитории или микрокапсулы. Примеры методик и протоколов, упомянутых выше, и другие методики и протоколы, которые можно применять согласно настоящему изобретению, можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, Gennaro, A.R., Lippincott Williams & Wilkins; 20th edition (Dec. 15, 2000) ISBN 0-912734-04-3 и Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems; Ansel, N. C et al. 7th Edition ISBN 0-683305-72-7, содержание которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки.

Также предложено применение соединений, меченных излучателями позитронов, описанных в настоящем документе, для получения визуализирующего агента для применения в способе диагностики субъекта.

Предложены способы получения диагностических изображений, включающие позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ). ПЭТ включает введение позитронно-излучающего радиофармпрепарата субъекту. После того как радиофармпрепарат был выдержан в течение достаточного количества времени для того, чтобы связаться с интересующей целью, субъект помещают внутрь сканирующего устройства, содержащего кольцо сцинтилляционных детекторов. Излучаемые позитроны проходят короткие (изотопно-зависимые) расстояния через ткань субъекта до момента взаимодействия с электроном. Взаимодействие аннигилирует как электрон, так и позитрон, с получением пары фотонов, движущихся в примерно противоположных направлениях. Они обнаруживаются тогда, когда достигают сцинтиллятора в сканирующем устройстве. Фотоны, которые прибывают не парами, игнорируются. Также предложены способы получения диагностических изображений, включающие ПЭТ с одновременной компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) или с одновременной магнитно-резонансной томографией (ПЭТ/МРТ). Компьютерная томография использует рентгеновские лучи для отображения структуры мозга, в то время как магнитно-резонансная томография использует магнитные поля и радиоволны.

Другие применения визуализирующих агентов и способов, описанных в настоящем документе, станут очевидными для специалистов в данной области техники после ознакомления, среди прочего, с настоящим описанием.

Как будет понятно, стадии способов, описанных в настоящем документе, не требуется выполнять какое-либо определенное число раз или в какой-либо определенной последовательности. Дополнительные цели, преимущества и новые признаки изобретения станут очевидными для специалистов в данной области техники после изучения следующих примеров, которые представлены исключительно в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

Примеры

Подробное описание экспериментов

Коммерчески доступные реагенты и растворители (степени чистоты "для ВЭЖХ") использовали без дополнительной очистки. Спектры ^1H ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker DRX 500 МГц или на спектрометре Bruker DPX 250 МГц в дейтерированных растворителях. Химические сдвиги δ выражены в частях на миллион (ppm). Сильную катионообменную хроматографию (SCX) проводили на Biotage Isolute Flash SCX-2, загружая образец в метаноле, и элюировали метанолом, затем 5% аммиаком в метаноле.

Аналитическую ВЭЖХ-МС (METCR1278) проводили на системах Shimadzu LCMS-2010EV с применением колонок с обращенной фазой Atlantis dC18 (3 мкм, 2,1×50 мм), градиент 5-100% В (А = вода/0,1% муравьиная кислота, В = ацетонитрил/0,1% муравьиная кислота) в течение 3 мин, вводимый объем 3 мкл, расход = 1,0 мл/мин. УФ-спектры регистрировали при 215 нм с использованием фотодетектора SPD-M20A с диодной матрицей. Масс-спектры были получены в диапазоне m/z от 150 до 850 при частоте дискретизации 2 сканирования в секунду с помощью LCMS2010EV. Данные обобщали и готовили отчет с помощью программного обеспечения Shimadzu LCMS-Solutions и Port.

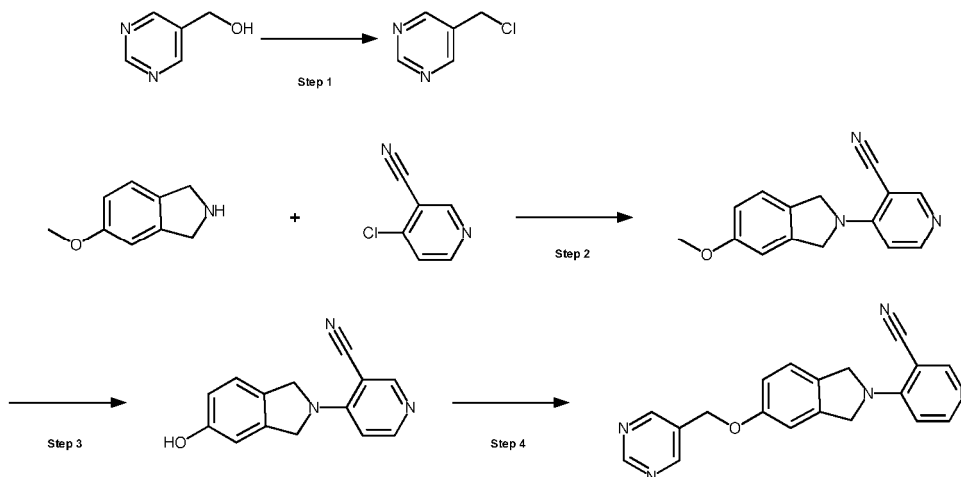
В качестве альтернативы, аналитическую ВЭЖХ-МС (METCR1416) проводили на системах Shimadzu LCMS-2010EV с применением колонок с обращенной фазой Water Atlantis dC18 (3 мкм, 2,1×100 мм), градиент 5-100% В (А = вода/0,1% муравьиная кислота, В = ацетонитрил/0,1% муравьиная кислота) в течение 7 мин, вводимый объем 3 мкл, расход = 0,6 мл/мин. УФ-спектры регистрировали при 215 нм с использованием фотодетектора SPD-M20A с диодной матрицей. Масс-спектры были получены в диапазоне m/z от 150 до 850 при частоте дискретизации 2 сканирования в секунду с помощью LCMS2010EV. Данные обобщали и готовили отчет с помощью программного обеспечения Shimadzu LCMS-Solutions и Port.

В качестве альтернативы, аналитическая стадия 2 ВЭЖХ-МС (Met-УВЭЖХ-AB-101) проводили на системе Waters Acquity UPLC с детекторами Waters PDA и ELS с использованием колонки Phenomenex Kinetex-XB C-18, (1,7 мкм, 2,1 мм β 100 мм при температура колонки 40°C, градиент 5-100% В (А = во-

да/0,1% муравьиная кислота; В = ацетонитрил/0,1% муравьиная кислота) в течение 5,3 мин, затем 100% В в течение 0,5 мин, расход = 0,6 мл/мин. УФ-спектры регистрировали при 215 нм с использованием Waters Acquity с диодной матрицей. Масс-спектры были получены в диапазоне m/z от 150 до 850 при частоте дискретизации 5 сканирований в секунду с помощью Waters SQD. Данные обобщали и готовили отчет с помощью программного обеспечения Waters MassLynx и OpenLynx. Все соединения в примерах проявляли чистоту ЖХ >95%, если не указано иное.

Способ 1.

Схема способа 1.



Стадия 1, способ 1: 5-(хлорметил)пиримидина гидрохлорид.

К раствору пиримидин-5-илметанола (48 мг, 0,43 ммоль) в дихлорметане (3 мл) по каплям медленно добавляли дихлорид тионила (0,26 мл, 3,6 ммоль) при температуре 0°C. Указанную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч, затем смесь концентрировали. Добавляли дихлорметан (5 мл) и смесь концентрировали ($\times 3$) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла, которое использовали непосредственно на следующей стадии. $\text{Tr}(\text{METCR1278})=0,90$ мин (ES^+) ($\text{M}+\text{H}^+$)⁺129/131.

Стадия 2, способ 1: 4-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил.

5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндола гидрохлорид (500 мг, 2,69 ммоль), 4-хлорпиридин-3-карбонитрил (448 мг, 3,23 ммоль) и диизопропилэтиламин (1,4 мл, 8,08 ммоль) суспендировали в н-бутаноле (6 мл).

Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при температуре 140°C в течение 1 ч. Реакционную смесь распределяли между этилацетатом (50 мл) и водой (30 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (2×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным солевым раствором (15 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. После очистки при помощи колоночной флэш-хроматографии (силикагель, 20-100% этилацетат в гептане) получали 230 мг указанного в заголовке соединения (выход 34%) в виде твердого вещества почти белого цвета. $\text{Tr}(\text{METCR1278})=1,28$ мин (ES^+) ($\text{M}+\text{H}^+$)⁺252.

Стадия 3, способ 1: 4-[5-гидрокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил.

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил (230 мг, 0,92 ммоль) растворяли в дихлорметане (15 мл) и перемешивали в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и медленно добавляли 1 М раствор трибромида бора в дихлорметане (4,58 мл, 4,58 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 48 часов. Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и медленно добавляли метанол (20 мл). Растворители удаляли в вакууме с получением 313 мг указанного в заголовке соединения (количественный выход) в виде твердого вещества бежевого цвета. $\text{Tr}(\text{METCR1278})=1,36$ мин (ES^+) ($\text{M}+\text{H}^+$)⁺ 238, 90%.

Стадия 4, способ 1: 4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил.

4-(5-гидрокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил (90%, 313 мг, 1,19 ммоль), 5-(хлорметил)пиримидина гидрохлорид (неочищенный, 1,42 ммоль) и йодид калия (217 мг, 1,31 ммоль) растворяли в безводном N,N-диметилформамиде (3 мл) и перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре. Добавляли гидрид натрия (60% в минеральном масле, 142 мг, 3,56 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем добавляли воду (0,1 мл) и растворители удаляли в вакууме. Остаток распределяли между этилацетатом (50 мл) и водой (50 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (20 мл), насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтрова-

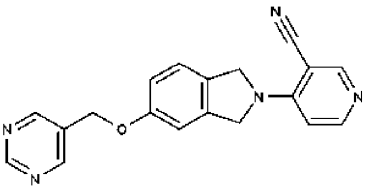
ли и концентрировали. После очистки при помощи препаративной ВЭЖХ (ацетонитрил-вода-0,2% гидроксид аммония) получали 19,5 мг указанного в заголовке соединения (выход 5%) в виде твердого вещества почти белого цвета.

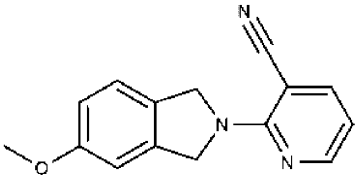
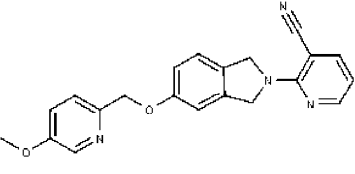
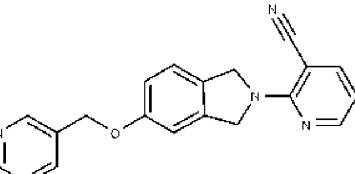
Пример 1, способ 1: 4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил.

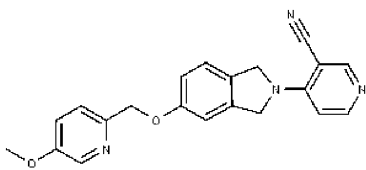
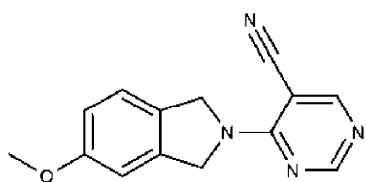
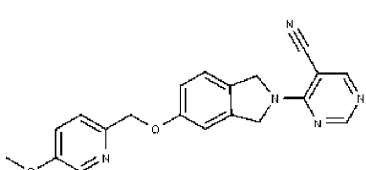
δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 9,19 (s, 1H), 8,93 (s, 2H), 8,51 (s, 1H), 8,29 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 7,37 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,16 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 7,05 (dd, J = 8,4, 2,3 Гц, 1H), 6,77 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 5,23 (s, 2H), 5,03 (s, 2H), 4,97 (s, 2H). Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,4 мин, (ES⁺) (M+H)⁺ 330.

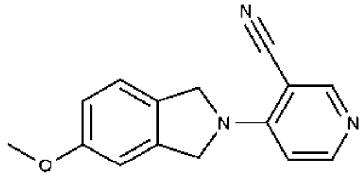
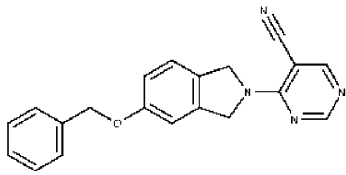
Следующие примеры получали согласно способу 1, описанному выше.

Таблица 1

Прим.	Структура	Мол. масса	Название по IUPAC	Данные ЖХ-МС
1		329,36	4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,4 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 330

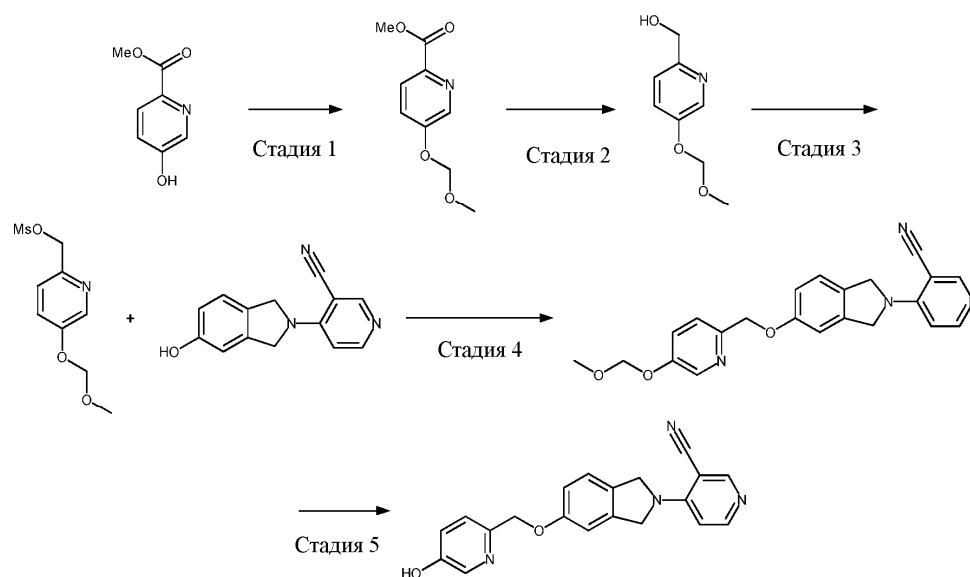
2		251,28	2-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 3,42 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 252
3		358,39	2-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 3,32 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 359
4		329,36	2-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 3,0 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 330

5		358,39	4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,7 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 359
6		252,27	4-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиримидин-5-карбонитрил	Tr(METCR1416) = 2,75 минут (ES ⁺) (M + H) ⁺ 253
7		359,38	4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 2,76 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 360

8		251,28	4-(5-метоксн-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,47 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 252
9		328,38	4-[5-(бензилокси)-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол-2-ил]пиримидин-5-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 3,68 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 329

Способ 2.

Схема способа 2.



Стадия 1, способ 2: Метил 5-(метоксиметокси)пиридин-2-карбоксилат.

Гидрид натрия (60% в минеральном масле, 144 мг, 3,59 ммоль) суспендировали в безводном N,N-диметилформамиде (5 мл) и охлаждали до температуры 0°C. К указанной суспензии медленно добавляли метил 5-гидроксипиридин-2-карбоксилат (500 мг, 3,27 ммоль), растворенный в N,N-диметилформамиде (5 мл). Указанную реакционную смесь оставляли перемешиваться в атмосфере азота и нагреваться до комнатной температуры в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и в течение 15 мин по каплям добавляли хлор(метокси)метан (0,26 мл, 3,43 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Затем добавляли воду (20 мл) и растворители удаляли в вакууме. Указанную смесь распределяли между этилацетатом и водой (1:1, 100 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×60 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (3×80 мл), насыщенным соевым раствором (50 мл), сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали с получением 0,6 г указанного в заголовке соединения (выход 89%) в виде масла оранжевого цвета, которое со временем затвердевало. Tr(METCR1278)=1,33 мин (ES⁺) (M+H)⁺ 198.

Стадия 2, способ 2: [5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил]метанол.

Метил 5-(метоксиметокси)пиридин-2-карбоксилат (0,39 г, 1,9 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (15 мл) и охлаждали до температуры 0°C в атмосфере азота. В течение 5 мин по каплям добавляли 2,4 М раствор алюмогидрида лития в тетрагидрофуране (0,87 мл, 2,09 ммоль) и указанную реакционную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 1,5 ч. Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и при интенсивном перемешивании в течение 10 мин по каплям добавляли насыщенный водный раствор сегнетовой соли (1 мл). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 1 ч. Полученную эмульсию фильтровали через стекловолоконную фильтровальную бумагу. Указанную фильтровальную бумагу промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (10 мл), а затем этилацетатом (3×10 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 276 мг указанного в заголовке соединения (выход 86%) в виде масла оранжевого цвета. Tr(METCR1278)=1,09 мин (ES⁺) (M+H)⁺ 170.

Стадия 3, способ 2: [5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил]метил метансульфонат.

[5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил]метанол (276 мг, 1,63 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл), охлаждали до температуры 0°C и перемешивали в атмосфере азота. Добавляли триэтиламин (250 мкл, 1,79 ммоль) с последующим добавлением по каплям метансульфонилхлорида (133 мкл, 1,71 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин при температуре 0°C и оставляли нагреваться до комнатной температуры. Добавляли воду (5 мл) и разделяли фазы. Водный слой экстрагировали дихлорметаном (3×15 мл); объединенные органические экстракты промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 275 мг указанного в заголовке соединения (выход 59%) в виде масла темно-красного цвета. Tr(METCR1278) = 1,35 мин (ES⁺) (M+H)⁺ 248.

Стадия 4, способ 2: 4-(5-{[5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил]метокси}-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил.

4-(5-гидрокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил (330 мг, 1,66 ммоль, полученный в соответствии со способом 1), [5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил] метил метансульфонат (532 мг, 1,66 ммоль) и йодид калия (62 мг, 0,37 ммоль) растворяли в безводном N,N-диметилформамиде (4 мл). Добавляли гидрид натрия (60% в минеральном масле, 27 мг, 0,16 ммоль) и указанную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 44 ч. Реакционную смесь гасили метанолом (2 мл) и распределяли между этилацетатом (100 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (50 мл) и насыщенным соевым раствором (50 мл). После разделения водный слой экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Органические экстракты объединяли, промывали водой (30 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растирали с этилацетатом:гептаном (1:1) с получением 269 мг указанного в заголовке соединения (выход 39%) в виде твердого вещества коричневого цвета.

δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,49 (s, 1H), 8,33 (d, J = 2,6 Гц, 1H), 8,27 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 7,49 (d, J = 2,7 Гц, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,32 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,09 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 6,98 (dd, J = 8,4, 2,3 Гц, 1H), 6,74 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 5,26 (s, 2H), 5,12 (s, 2H), 4,96 (d, J = 22,4 Гц, 4H), 3,38 (s, 3H).

Стадия 5, способ 2: 4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил.

К раствору 4-(5-{[5-(метоксиметокси)пиридин-2-ил]метокси}-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила (269 мг, 0,69 ммоль) в тетрагидрофуране (40 мл) добавляли 3 М раствор соляной кислоты (4,6 мл) и указанную смесь перемешивали при температуре 60°C в течение 8 ч. Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли в вакууме и полученный остаток разбавляли водой. Порциями добавляли твердый бикарбонат натрия до тех пор, пока значение pH не достигало примерно 8. Твердое вещество собирали при помощи фильтрации, промывали водой (2×10 мл) и сушили в вакууме. После очистки при помощи колоночной флэш-хроматографии (силикагель, 0-60% тетрагидрофуран в гептане) получали 101 мг указанного в заголовке соединения (выход 42%) в виде твердого вещества белого цвета.

Пример 4, способ 2: 4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил.

δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 10,01 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,27 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 8,11 (d, J = 2,5 Гц, 1H), 7,34 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,32 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,18 (dd, J = 8,4, 2,9 Гц, 1H), 7,08 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,97 (dd, J = 8,4, 2,4 Гц, 1H), 6,75 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,98 (s, 2H), 4,94 (s, 2H). Tr (MET-УВЭЖХ-AB-101) = 1,28 минут, (ES⁺) (M + H)⁺ 345.

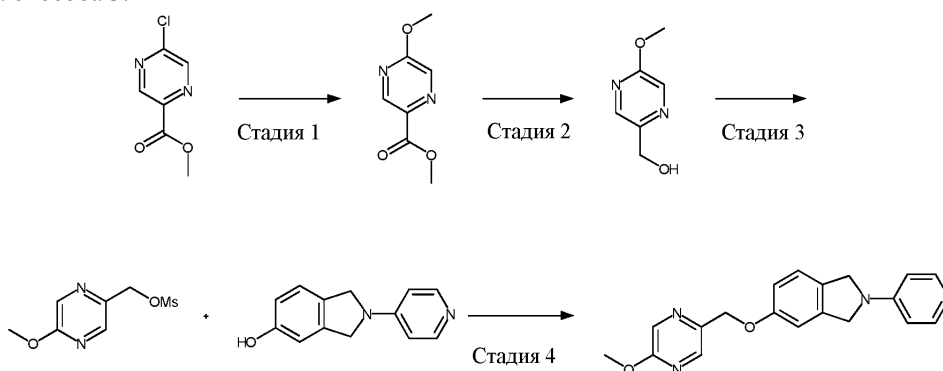
Следующие примеры получали согласно способу 2, описанному выше.

Таблица 2

Прим.	Структура	Мол. масса	Название по IUPAC	Данные ЖХ-МС
1		344,37	4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,28 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 345
2		345,36	4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-карбонитрил	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 2,02 минут, (ES ⁺) (M + H) ⁺ 346

Способ 3.

Схема способа 3.



Стадия 1, способ 3: Метил 5-метоксипиразин-2-карбоксилат.

К метил 5-хлорпиразин-2-карбоксилату (2,00 г, 11,6 ммоль) в атмосфере азота добавляли 0,5 М раствор метоксида натрия в метаноле (27,8 мл, 13,9 ммоль). Смесь нагревали с обратным холодильником при температуре 90°C в течение 15 мин. Затем указанную смесь гасили водой (80 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Объединенные органические экстракты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 1,68 г указанного в заголовке соединения (выход 79%) в виде порошка белого цвета. δ_{H} ЯМР (500 МГц, хлороформ) 8,88 (d, J=1,2 Гц, 1H), 8,28 (d, J=1,2 Гц, 1H), 4,05 (s, 3H), 4,00 (s, 3H). Tr(METCR1278) = 1,23 мин (ES⁺) (M+H)⁺ 169.

Стадия 2, способ 3: (5-метоксипиразин-2-ил)метанол.

Боргидрид натрия (270 мг, 7,14 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору метил 5-метоксипиразин-2-карбоксилата (200 мг, 1,19 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (8 мл) в атмосфере азота. Указанную смесь нагревали с обратным холодильником при температуре 65°C в течение 15 мин, после чего медленно добавляли метанол (1,59 мл, 39,2 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным

холодильником при температуре 65°C в течение 1,5 ч. Указанную смесь гасили водой (0,5 мл), затем добавляли дополнительным количеством воды (15 мл), экстрагировали этилацетатом (2×25 мл), затем 20% 2-пропанолом в дихлорметане (25 мл). Объединенные органические экстракты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 115 мг указанного в заголовке соединения (выход 69%) в виде твердого кристаллического вещества белого цвета. δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,28-8,16 (m, 2H), 5,41 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 4,54 (d, J = 5,6 Гц, 2H), 3,90 (s, 3H). Tr(METCR1278)=0,74 мин (ES^+)(M+H)⁺141.

Стадия 3, способ 3: (5-метоксипиразин-2-ил)метилметансульфонат.

К перемешиваемому раствору (5-метоксипиразин-2-ил)метанола (73 мг, 0,52 ммоль) в дихлорметане (1 мл) в атмосфере азота добавляли триэтиламин (0,08 мл, 0,73 ммоль) с последующим добавлением метансульфонилхлорида (0,042 мл, 0,55 ммоль).

Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем смесь распределяли между дихлорметаном (10 мл) и водой (10 мл). Органический экстракт сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 59 мг указанного в заголовке соединения (выход 52%) в виде масла желтого цвета. Tr(METCR1278) = 1,25 мин (ES^+)(M + H)⁺ 219.

Стадия 4, способ 3: 5-[(5-метоксипиразин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол.

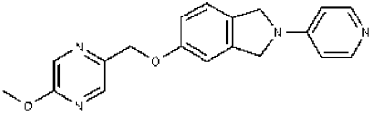
2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-5-ол (87%, 289 мг, 1,18 ммоль, полученный в соответствии со способом 1), (5-метоксипиразин-2-ил)метил метансульфонат (310 мг, 1,42 ммоль) и йодид калия (197 мг, 1,18 ммоль) растворяли в безводном N,N-диметилформамиде (5 мл) и перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре. Добавляли гидрид натрия (60% в минеральном масле, 142 мг, 3,55 ммоль) и указанную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 ч в атмосфере азота. Растворители удаляли в вакууме и после очистки при помощи препаративной ВЭЖХ (ацетонитрил-вода-0,2% гидроксид аммония) получали 30,1 мг указанного в заголовке соединения (выход 8%) в виде твердого вещества бежевого цвета.

Пример 1, способ 3: 5-[(5-метоксипиразин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол.

δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,38 (d, J = 1,1 Гц, 1H), 8,34 (d, J = 1,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J=6,3 Гц, 2H), 7,32 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 7,10 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 7,01 (dd, J = 8,4, 2,3 Гц, 1H), 6,57 (d, J = 6,4 Гц, 2H), 5,17 (s, 2H), 4,62 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 3,92 (s, 3H). Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,77 мин, (ES^+)(M + H)⁺ 335.

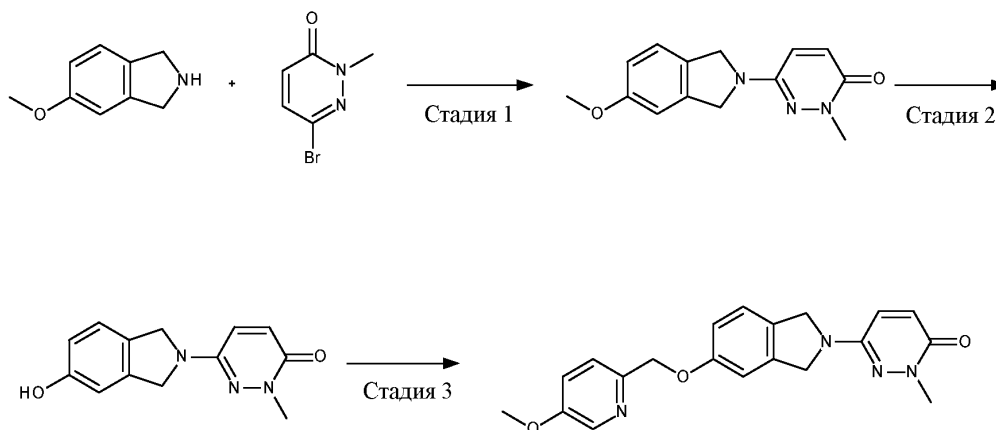
Следующий пример получали согласно способу 3, описанному выше.

Таблица 3

Прим.	Структура	Мол. масса	Название по IUPAC	Данные ЖХ-МС
1		334,37	5-[(5-метоксипиразин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол	Tr(MET-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,77 минут, m/z (ES^+)(M + H) ⁺ 335

Способ 4.

Схема способа 4.



Стадия 1, способ 4: 6-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он. 5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндола гидрохлорид (170 мг, 0,92 ммоль), 6-бром-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он (182 мг, 0,96 ммоль) и карбонат диецизия (895,06 мг, 2,75 ммоль) суспендировали в безводном толуоле (3 мл) и подвергали обработке ультразвуком в потоке азота в течение 5 мин. Добавляли ацетат палладия (II) (20,56 мг, 0,09 ммоль) и 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен (53 мг, 0,09 ммоль) и указанную реакционную смесь нагревали до температуры 100°C в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через слой целита. Целит промывали 10% раствором метанола в дихлорметане и полученный фильтрат концентрировали в вакууме и очищали при помощи колоночной флэш-хроматографии (силикагель, 20-100% этилацетат в гептане, 0-10% метанол в дихлорметане), сильной катионообменной хроматографии и ВЭЖХ (ацетонитрил/вода + 0,2% муравьиная кислота) с получением 34 мг указанного в заголовке соединения (выход 14%) в виде твердого вещества бежевого цвета. δ_H ЯМР (500 МГц, ДМСО) 7,30 (d, J = 9,8 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 6,96 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,92 - 6,84 (m, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,59 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,53 (s, 3H). Tr(MET-УВЭЖХ-AB-101) = 2,56 мин, (ES⁺) (M+H)⁺ 258.

Стадия 2, способ 4: 6-(5-гидрокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он. 6-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он (96 мг, 0,37 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (5 мл), добавляли 1 М раствор трибромборана в дихлорметане (0,6 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Добавляли 1 М раствор трибромборана в дихлорметане (0,2 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (15 мл) и реакционную смесь энергично перемешивали в течение 20 мин. Указанную реакционную смесь фильтровали и осадок совместно дистиллировали из метанола (5 мл) и толуола (2×10 мл) с получением 84 мг указанного в заголовке соединения (выход 90%) в виде твердого вещества бежевого цвета, δ_H ЯМР (500 МГц, ДМСО) 7,29 (d, J = 9,8 Гц, 1H), 7,14 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 6,88 (d, J = 9,8 Гц, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,69 (dd, J = 8,2, 2,1 Гц, 1H), 4,58 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 3,52 (s, 3H). Tr(METCR1673) = 0,94 минут (ES⁺) (M + H)⁺ 244.

Стадия 3, способ 4: 6-{5-[(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он]}

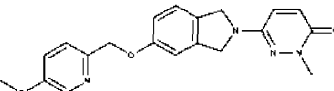
(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он (54 мг, 0,37 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (3 мл), добавляли дихлорид тионила (0,25 мл, 3,35 ммоль) и реакционную смесь нагревали до температуры 50°C в атмосфере азота в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали в вакууме из дихлорметана (3×10 мл) с получением масла коричневого цвета, которое неочищенным использовали на следующей стадии. 6-(5-гидрокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он (97%, 84 мг, 0,33 ммоль), йодид калия (61 мг, 0,37 ммоль) и 2-(хлорметил)-5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он (58 мг, 0,37 ммоль) растворяли в безводном N,N-диметилформамиде (5 мл), добавляли гидрид натрия (60%, 40,19 мг, 1 ммоль) и указанную реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Добавляли гидрид натрия (60%, 40 мг, 1 ммоль) и реакционную смесь нагревали до температуры 70°C в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, гасили добавлением воды (1 мл), растворители удаляли в вакууме и затем выдерживали в течение 16 ч. Остаток распределяли между этилацетатом (50 мл) и водой (50 мл), фазы разделяли и затем водный слой экстрагировали этилацетатом (2×50 мл), объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и фильтрат выпаривали в вакууме. После очистки при помощи колоночной флэш-хроматографии (силикагель, 20-100% этилацетат в гептане, затем 10% метанол в дихлорметане) получали 32 мг указанного в заголовке соединения (выход 26%) в виде твердого вещества бежевого цвета.

Пример 1, способ 4: 6-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он.

δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,28 (d, J = 2,8 Гц, 1H), 7,47 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 7,42 (dd, J = 8,6, 2,9 Гц, 1H), 7,30 (d, J = 9,8 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,05 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,95 (dd, J = 8,4, 2,3 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 9,8 Гц, 1H), 5,11 (s, 2H), 4,62 (s, 2H), 4,59 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,53 (s, 3H). Tr (МЕТ-УВЭЖХ-АВ-101) = 2,56 мин, (ES⁺) (M+H)⁺ 365.

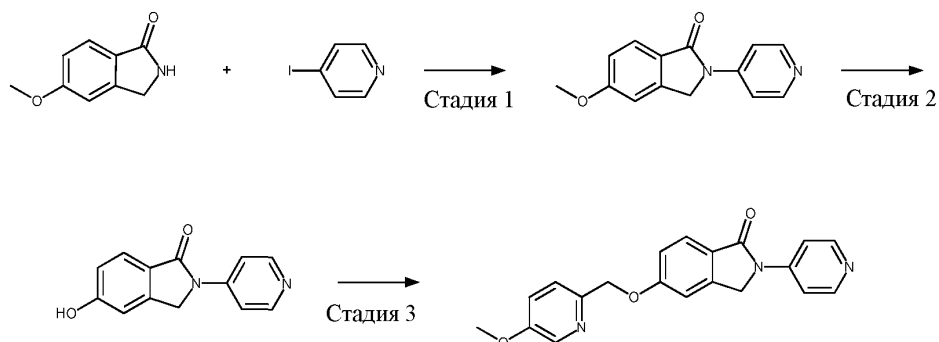
Следующий пример получали согласно способу 4, описанному выше.

Таблица 4

Прим.	Структура	Мол. масса	Название по IUPAC	Данные ЖХ-МС
1		364,41	6-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-он	Tr(МЕТ-УВЭЖХ-АВ-101) = 2,56 минут, m/z (ES ⁺) (M + H) ⁺ 365

Способ 5.

Схема способа 5.



Стадия 1, способ 5: 5-метокси-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он.

5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он (100 мг, 0,61 ммоль), 4-йодпиридин (126 мг, 0,61 ммоль), (9,9-диметил-9H-ксантен-4,5-диил)бис(дифенилфосфан) (53 мг, 0,09 ммоль) и карбонат дицезия (300 мг, 0,92 ммоль) суспендировали в безводном диоксане (1 мл) и смесь дегазировали. Добавляли (1E,4E)-1,5-дифенилпента-1,4-диен-3-он-палладий (3:2) (28 мг, 0,03 ммоль) и смесь нагревали в микроволновой печи при температуре 140°C в течение 90 мин. Указанную смесь разбавляли этилацетатом (10 мл) и водой (5 мл) и фильтровали с получением 28 мг указанного в заголовке соединения (выход 20%) в виде порошка коричневого цвета. δ_{H} ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,58 - 8,47 (m, 2H), 7,91 - 7,82 (m, 2H), 7,74 (d, J = 8,5 Гц, 1H), 7,23 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 7,11 (dd, J = 8,5, 2,3 Гц, 1H), 4,98 (s, 2H), 3,89 (s, 3H). Tr (МЕТ-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,27 мин, (ES⁺) (M+H)⁺ 241.

Стадия 2, способ 5: 5-гидрокси-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он.

К 5-метокси-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-ону (37 мг, 0,15 ммоль) в 1,2-дихлорэтано (10 мл) добавляли 1 М раствор трибромборана в дихлорметане (1,54 мл, 1,54 ммоль) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Добавляли 1 М раствор трибромборана в дихлорметане (1,54 мл, 1,54 ммоль) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 2 дней, затем выдерживали при комнатной температуре в течение 2 дней. Смесь выливали на смесь (1:1) лед:насыщенный бикарбонат натрия (50 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Указанную смесь фильтровали и промывали водой (5 мл) и дихлорметаном, затем сушили в вакуумной печи с получением 19 мг указанного в заголовке соединения (выход 55%) в виде порошка рыжевато-коричневого цвета. δ_{H} ЯМР (250 МГц, ДМСО, 353 К) 8,72 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 8,30 (d, J = 7,4 Гц, 2H), 7,73 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 7,01 (dd, J = 11,3, 3,0 Гц, 2H), 5,05 (s, 2H).

Tr (METCR0990) = 0,85 мин (ES⁺) (M+H)⁺ 227.

Стадия 3, способ 5: 5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он.

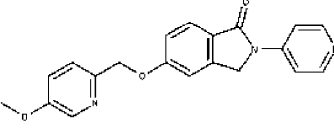
(5-метоксипиридин-2-ил)метанол (95%, 18 мг, 0,13 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (3 мл), добавляли дихлорид тионила (61 мкл, 0,84 ммоль) и реакционную смесь нагревали до температуры 50°C в атмосфере азота в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали в вакууме с получением масла коричневого цвета, которое неочищенным использовали на следующей стадии. 5-гидрокси-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он (19 мг, 0,08 ммоль) и 2-(хлорметил)-5-метоксипиридин (20 мг, 0,13 ммоль) растворяли в безводном N,N-диметилформамиде (2 мл), добавляли гидрид натрия (60%, 40,19 мг, 1 ммоль) и указанную реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере азота. Указанную реакционную смесь гасили добавлением воды (5 мл) и фильтровали, промывали водой (3 мл), гептаном (5 мл) и метанолом (2 мл) и сушили в вакуумной печи с получением 7 мг указанного в заголовке соединения (выход 24%) в виде порошка коричневого цвета.

Пример 1 способ 5: 5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он.

δ_H ЯМР (500 МГц, ДМСО) 8,56 - 8,48 (m, 2H), 8,31 (d, J = 2,9 Гц, 1H), 7,90 - 7,85 (m, 2H), 7,74 (d, J=8,5 Гц, 1H), 7,52 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 7,44 (dd, J = 8,6, 2,9 Гц, 1H), 7,31 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 7,19 (dd, J = 8,5, 2,1 Гц, 1H), 5,24 (s, 2H), 4,97 (s, 2H), 3,84 (s, 3H). Tr (МЕТ-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,59 мин, (ES⁺) (M+H)⁺ 348.

Следующий пример получали согласно способу 5, описанному выше.

Таблица 5

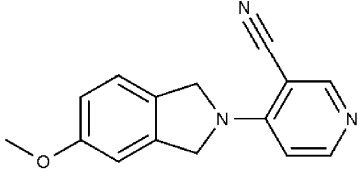
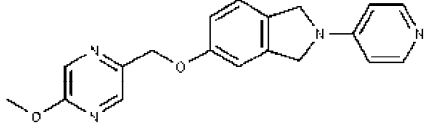
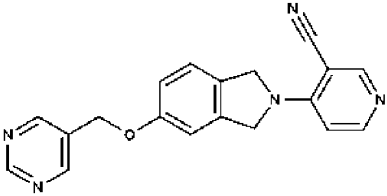
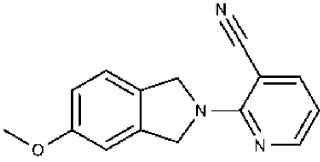
Прим.	Структура	Мол. масса	Название по IUPAC	Данные ЖХ-МС
1		347,37	5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-1-он	Tr(МЕТ-УВЭЖХ-АВ-101) = 1,59 минут, m/z (ES ⁺) (M + H) ⁺ 348

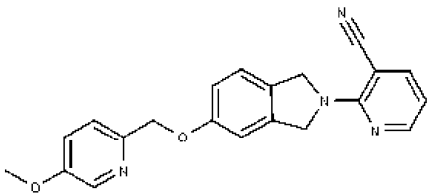
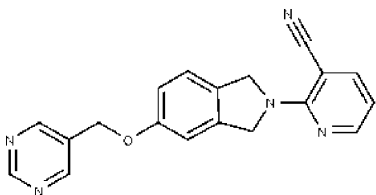
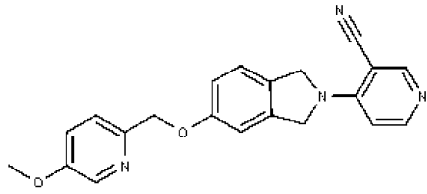
Биологические примеры

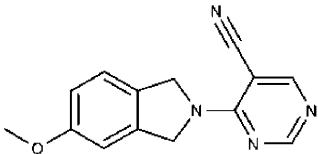
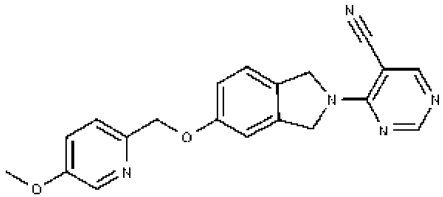
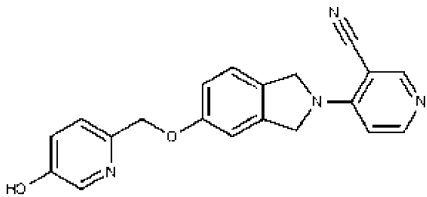
Анализ радиолигандного связывания Q46.

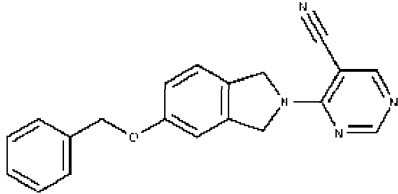
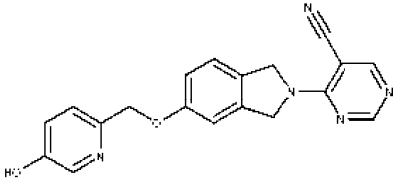
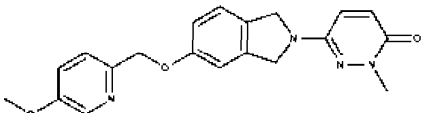
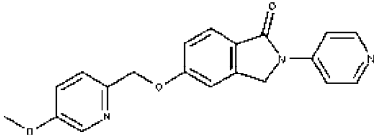
Для анализа радиолигандного связывания (RBA) получали белок GST-B46 на основе предыдущей публикации (Scherzinger et al. Cell, Vol. 90, 549-558, 8 August, 1997). Для экспериментов 33 мкМ GST-B46 инкубировали с 150 мкг/мл тромбина в буфере для анализа (150 мМ NaCl, 50 мМ Трис pH 8,0) и 2 мМ CaCl₂ в течение 16 ч при температуре 37°C. Агрегированный B46 осаждали центрифугированием в течение 5 мин при 13000 об/мин в стеновой центрифуге и повторно растворяли в том же объеме буфера для анализа. Тестируемые соединения были получены путем титрования в ДМСО в 11 концентрациях от 33 мкМ до 1 нМ. Для анализа радиолигандного связывания агрегаты белка Q46 и тестируемые соединения предварительно инкубировали в буфере для анализа в течение 20 мин при комнатной температуре, при 140 мкл/лунку в 96-луночном планшете (полипропиленовый, с круглым дном). Затем добавляли лиганд 10 мкл/лунку и инкубировали в течение 60 мин при температуре 37°C. Конечные концентрации составляли от 1 до 30 мкМ тестируемого соединения, 5 мкМ белка B46 (эквивалент концентрации мономера) и 10 нМ лиганда [³H₃] МК-3328 (Harrision et al., ACS Med. Chem. Lett., 2 (2011), pp 498-502). Образцы переносили на пластины фильтпресса GF/B и дважды промывали 200 мкл PBS с помощью коллектора Filtermate. Фильтровальные пластины сушили в течение 1 ч при температуре 37°C, после чего заднюю часть пластин запечатывали фольгой и добавляли 30 мкл/лунку сцинтилляционной жидкости (Packard MicroScint 40), затем инкубировали в течение 15 мин в темноте и производили подсчет при помощи ридера TopCount. Для анализа реплицированные данные из независимых аналитических планшетов были нормализованы по отношению к ингибированию 0% и 100% с использованием контрольных лунок с носителем (0% ингибирования) и 3 мкМ немеченого МК-3328 (100% ингибирования). Значения IC₅₀ определяли с помощью сигмоидальной модели ингибирования с четырьмя переменными (верх, низ, наклон, IC₅₀) с подгонкой с использованием нормированных реплицированных данных.

Результаты RBA IC₅₀: < 100 нМ +++, 100 - 500 нМ ++, > 500 нМ +

Структура	Название по IUPAC	Актив- ность
	4-(5-метокси-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил	+++
	5-[(5-метоксипиразин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол	+++
	4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил	+++
	2-(5-метокси-2,3-дигидро-1 <i>H</i> -изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрил	+++

	2-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1<i>H</i>-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил	+++
	2-[5-(пиридин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1<i>H</i>-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрил	+++
	4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1<i>H</i>-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрил	+++

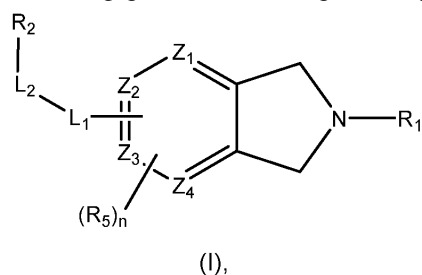
	4-(5-метокси-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил)пиримидин-5- карбонитрил	+++
	4-{5-[(5- метоксипиридин-2- ил)метокси]-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил} пиримидин-5- карбонитрил	+++
	4-{5-[(5- гидроксипиридин-2- ил)метокси]-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил} пиридин-3- карбонитрил	+++

	4-[5-(бензилокси)-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил]пиримидин-5- карбонитрил	+++
	4-{5-[(5- гидроксипиридин-2- ил)метокси]-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил}пиримидин-5- карбонитрил	+++
	6-{5-[(5- метоксипиридин-2- ил)метокси]-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 2-ил}-2-метил-2,3- дигидропиридазин-3- он	+++
	5-[(5- метоксипиридин-2- ил)метокси]-2- (пиридин-4-ил)-2,3- дигидро-1<i>H</i>-изоиндол- 1-он	+++

Различные модификации, дополнения, замены и вариации иллюстративных примеров, приведенных в настоящем документе, будут очевидны специалистам в данной области техники из приведенного выше описания. Такие модификации также подпадают в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Визуализирующий агент для получения диагностических изображений у субъекта, представляющий собой соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



где

каждый из Z_1 , Z_2 , Z_3 и Z_4 представляет собой CH ;

R_1 представляет собой 6-членный моноциклический гетероарил, содержащий 1 или 2 атома азота, необязательно замещенный одной или двумя группами, независимо выбранными из циано и C_{1-6} алкила, или R_1 представляет собой 2,3-дигидропиридазин-3-он-6-ил, замещенный C_{1-6} алкилом;

L_1 представляет собой O;

L_2 представляет собой $(\text{CH}_2)_m$, при этом m представляет собой 1; и

R_2 выбран из водорода, C_{6-12} арила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или гетероарила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, где гетероарил представляет собой 5-12-членное ароматическое кольцо, содержащее 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S;

R_5 представляет собой оксо (в качестве заместителя в гетероциклоалкильном кольце);

n представляет собой 0 или 1;

при этом указанное соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами.

2. Визуализирующий агент по п.1, отличающийся тем, что R_1 замещен одной группой циано; или

R_1 выбран из пиридин-4-ила, пиридин-2-ила, пиридин-3-ила и пиримидин-4-ила; или

R_1 выбран из 5-циано-пиримидин-4-ила, пиридин-4-ила, 3-циано-пиридин-4-ила, 3-циано-пиридин-6-ила, 3-циано-пиридин-2-ила, 2-циано-пиридин-4-ила и 4-циано-пиридин-3-ила; или

R_1 представляет собой пиридин-4-ил, 5-циано-пиримидин-4-ил или 3-циано-пиридин-4-ил.

3. Визуализирующий агент по п.1, отличающийся тем, что R_1 представляет собой 2,3-дигидропиридазин-3-он-6-ил, замещенный C_{1-6} алкилом.

4. Визуализирующий агент по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что R_2 выбран из C_{6-12} арила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси, или гетероарила, необязательно замещенного гидроксилом или C_{1-6} алкокси; или R_2 выбран из фенила, пиридин-2-ила, пиримидин-5-ила, пиразин-2-ила и пиримидин-5-ила, каждый из которых необязательно замещен гидроксилом или C_{1-6} алкокси; или R_2 представляет собой водород.

5. Визуализирующий агент по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что указанное соединение формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль, помечено одним или более позитрон-излучающими радионуклидами, выбранными из: ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O и ^{18}F .

6. Соединение, выбранное из:

2-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила;

2-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

2-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиримидин-5-карбонитрила;

4-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-

карбонитрила;

4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиридин-3-карбонитрила;

4-(5-метокси-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил)пиридин-3-карбонитрила;

4-[5-(пиримидин-5-илметокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиридин-3-карбонитрила;

5-[(5-метоксипиразин-2-ил)метокси]-2-(пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-изоиндола;

4-[5-(бензилокси)-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил]пиримидин-5-карбонитрила;

4-{5-[(5-гидроксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}пиримидин-5-

карбонитрила;

6-{5-[(5-метоксипиридин-2-ил)метокси]-2,3-дигидро-1H-изоиндол-2-ил}-2-метил-2,3-дигидропиридазин-3-она;

или его фармацевтически приемлемой соли; и

при этом указанное соединение помечено одним или более позитрон-излучающими радионуклидами.

7. Соединение по п.6, отличающееся тем, что указанное соединение или его фармацевтически при-

емлемая соль помечены одним или более позитрон-излучающими радионуклидами, выбранными из: ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O и ^{18}F .

8. Способ получения диагностических изображений у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества визуализирующего агента по любому из пп.1-5 и получение изображения по меньшей мере части тела указанного субъекта.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что получение изображения по меньшей мере части тела указанного субъекта включает получение изображения с обнаружением присутствия или отсутствия мономеров или агрегатов белка хантингтина (белка НТТ) в головном мозге указанного субъекта и обнаружение наличия или отсутствия патологического процесса.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные мономеры или агрегаты белка НТТ присутствуют в базальных ганглиях указанного головного мозга указанного субъекта.

11. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанный патологический процесс представляет собой нейродегенеративное заболевание.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что указанное нейродегенеративное заболевание выбрано из болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, прионной болезни и спинально-церебеллярных атаксий, или указанное нейродегенеративное заболевание представляет собой болезнь Хантингтона (БХ).

13. Способ по любому из пп.8-12, отличающийся тем, что активность указанного эффективного количества указанного визуализирующего агента составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 20 мКи, или приблизительно 10 мКи.

14. Способ по любому из пп.8-13, отличающийся тем, что указанное получение изображения включает позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), ПЭТ, совмещенную с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), ПЭТ, совмещенную с магнитно-резонансной томографией (ПЭТ/МРТ), или их комбинацию, или указанное получение изображения включает ПЭТ-визуализацию.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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