

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039788**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.03.14

(21) Номер заявки
201991109

(22) Дата подачи заявки
2017.10.31

(51) Int. Cl. **C07D 487/04** (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **ПРОИЗВОДНЫЕ [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-А]ПИРИМИДИНА В КАЧЕСТВЕ
ИНГИБИТОРОВ PDE2**

(31) **16196924.1**

(32) **2016.11.02**

(33) **EP**

(43) **2019.09.30**

(86) **PCT/EP2017/077910**

(87) **WO 2018/083098 2018.05.11**

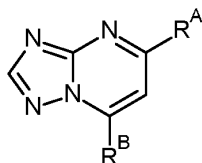
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(56) **WO-A1-2015164508**
WO-A1-2017076900

(72) Изобретатель:
**Ван Росбрук Ив Эмиль Мария, Ван
Ден Кейбюс Франс Альфонс Мария
(BE), Тресадерн Гэри Джон (ES),
Бейнстерс Петер Якобус Йоханнес
Антониус, Велтер Адриана Ингрид,
Якоби Эдгар, Макдональд Грегор
Джеймс, Гейсен Хенрикус Якобус
Мария, Ахнау Абделлах, Дринкенбург
Вильгельмус Хелена Игнатиус Мария
(BE)**

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

(57) Настоящее изобретение относится к новым производным [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинила, характеризующимся формулой (I), в качестве ингибиторов фосфодиэстеразы 2 (PDE2). Настоящее изобретение также направлено на фармацевтические композиции, содержащие соединения, на способы получения таких соединений и композиций и на применение таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена PDE2, таких как неврологические и психические расстройства.



(I)

B1**039788****039788****B1**

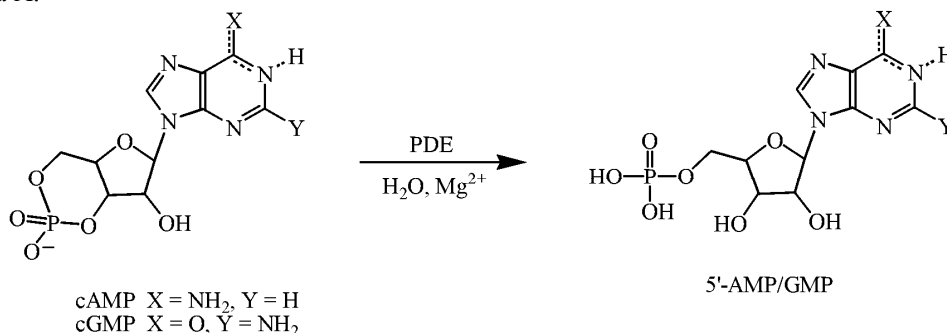
Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым производным [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинила в качестве ингибиторов фосфодиэстеразы 2 (PDE2). Настоящее изобретение также направлено на фармацевтические композиции, содержащие соединения, на способы получения таких соединений и композиций и на применение таких соединений и композиций для предупреждения и лечения расстройств, в которые вовлечена PDE2, таких как неврологические и психические расстройства.

Предпосылки изобретения

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

Схема А:



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

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

Фосфодиэстераза 2A (PDE2A) инактивирует внутриклеточные механизмы передачи сигналов, которые зависят от передачи сигналов с помощью циклических нуклеотидов, опосредованной сАМР и сGMP, путем их расщепления (путем гидролиза важных с биологической точки зрения вторичных мессенджеров сАМР и сGMP с получением не передающих сигналы AMP и GMP соответственно). Такие сигнальные пути, как известно, играют роль в регуляции генов, вовлеченных в индукцию синаптической пластичности. Фармакологическое ингибирование PDE2, таким образом, обуславливает повышение уровней синаптической пластичности (коррелята, лежащего в основе обучения и формирования памяти), что указывает на то, что модуляция PDE2A может представлять собой цель для облегчения нарушений познавательных способностей, наблюдаемых у людей, страдающих такими расстройствами, как, например, шизофрения, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и другие расстройства ЦНС, ассоциированные с когнитивной дисфункцией.

Фосфодиэстераза 2A (PDE2A) экспрессируется в головном мозге в большем количестве по сравнению с периферическими тканями. Высокий уровень экспрессии PDE2 в лимбической системе (изокортексе, гиппокампе, миндалевидном теле, поводке эпителиамуса, базальном ядре) указывает на то, что PDE2 может модулировать передачу сигнала между нейронами, связанную с эмоцией, восприятием, вниманием, обучением и памятью. Кроме того, PDE2 экспрессируется в прилежащем ядре, обонятельной луковице, обонятельном бугорке и миндалевидном теле, что подтверждает предположение, что PDE2 может также быть вовлеченной в тревожность и депрессию, (см., например, Lakics, V. et al. (2010) Quanti-

tative comparison of phosphodiesterase mRNA distribution in human brain and peripheral tissues. *Neuropharmacol.* 59, 367-374).

Кроме того, было показано, что ингибиторы PDE2 являются эффективными в отношении ослабления тревожности, индуцированной окислительным стрессом, что свидетельствует в пользу их применения в лечении тревожности при психоневрологических и нейродегенеративных расстройствах, в которые вовлечен окислительный стресс, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и рассеянный склероз.

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

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

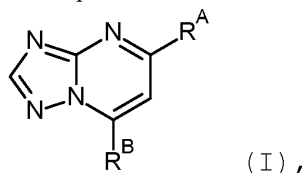
В WO 2015/164508 (Dart Neuroscience, LLC) раскрыты замещенные [1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидинильные соединения в качестве ингибиторов PDE2. В WO 2017/076900 (Janssen Pharmaceutica NV) раскрывается [(3S,4R)-3-[5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-ил]-4-метил-1-пиперидил]-(2,6-диметил-4-пиридил)метанол.

Все еще существует необходимость в соединениях, представляющих собой ингибиторы PDE2, с преимущественным сочетанием свойств, например с улучшенной эффективностью, лучшей селективностью в отношении PDE3 и/или PDE10 и/или лучшей химической или метаболической стабильностью.

Краткое описание изобретения

Целью настоящего изобретения является обеспечение новых ингибиторов PDE2, которые могут быть потенциально применимыми в лечении заболеваний, связанных с активностью фермента PDE2.

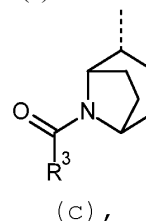
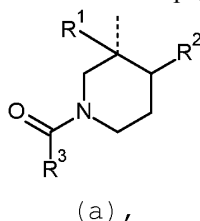
Таким образом, настоящее изобретение направлено на соединения формулы (I)



и их стереоизомерные формы, где

R^A выбран из группы, состоящей из H, CH_3 , CN и CHF_2 ;

R^B представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из (a) и (c)



где

R^1 представляет собой H, F или CH_3 ;

R^2 представляет собой H, метил или н-бутил;

при условии, что если R^2 представляет собой H, то R^1 представляет собой F или CH_3 ;

R^3 представляет собой Ar, Het или $Ar-C_{2-4}$ алкенил; где

Ar представляет собой фенил или нафтил, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; CN;

$NR^{2A}R^{2B}$, где каждый из R^{2A} и R^{2B} независимо выбран из H и CH_3 ; OH; C_{1-6} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена;

C_{1-6} алкила, замещенного CN; C_{3-6} циклоалкила;

C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и пиразолила;

Het представляет собой

(i) 5-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1H-пирролила; тиенила; фуридила; 1H-пирозолила; 1H-имидазолила; 1,2-оксазолила; 1,3-оксазолила и тиазолила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2, или 3 независимо выбранными

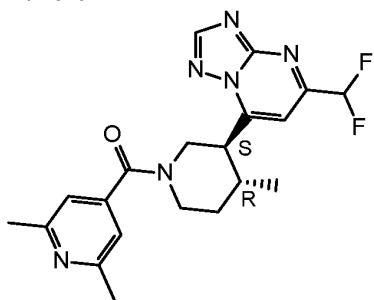
заместителями, представляющими собой атом галогена; $\text{NR}^{3A}\text{R}^{3B}$, где каждый из R^{3A} и R^{3B} независимо выбран из H и CH_3 ; и фуран-2-ила; или

(ii) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиразинила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, где каждый из R^{4A} и R^{4B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{1-4} алкила, замещенного OH; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси; C_{1-4} алкилокси; C_{1-4} алкилокси C_{1-4} алкила; или

(iii) 8-10-членный бициклический частично ненасыщенный гетероцикл, выбранный из группы, состоящей из 2,3-дигидро-1-бензофуранила; 2Н-хроменила; 3,4-дигидро-2Н-хроменила; 2,3-дигидро-1Н-индолила, необязательно замещенного в положении 1 1-ацетилем; 2,2-дифтор-1,3-бензодиоксилом; 1,3-бензодиоксилом, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой метил; 3,4-дигидро-2Н-1,4-бензоксазинила, необязательно замещенного C_{1-4} алкилом; 5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-а]пиридинила; 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой атом галогена; и 2,3-дигидропиразоло[5,1-б][1,3]оксазолила; или

(iv) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуранила; 1-бензотиофенила; 1Н-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1Н-бензимидазолила; имидазо[1,2-а]пиридинила; пиразоло[1,5-а]пиридинила; 1Н-тиено[2,3-е]пиразолила; имидазо[2,1-б]тиазолила; пирроло[2,3-е]пиридинила; тиено[3,2-б]пиридинила; хинолинила; изохинолинила; хиноксалинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, где каждый из R^{5A} и R^{5B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси;

при условии, что соединение не является



или его N-оксид, или фармацевтически приемлемая соль, и N-оксиды, и их фармацевтически приемлемые соли. Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и соединение формулы (I), описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемые соли или сольват. Иллюстрацией настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, полученная путем смешивания соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата и фармацевтически приемлемого носителя. Иллюстрацией настоящего изобретения является способ получения фармацевтической композиции, предусматривающий смешивание соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата и фармацевтически приемлемого носителя.

Примером настоящего изобретения являются способы лечения расстройства, опосредованного ферментом PDE2, предусматривающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы, состоящей из неврологических и психических расстройств, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы неврологических и психических расстройств, выбранных из психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; наркотической зависимости; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; инсульта и аутических расстройств, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтиче-

ски приемлемых соли или сольвата, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы, состоящей из неврологических и психических расстройств, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы неврологических и психических расстройств, выбранных из психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; наркотической зависимости; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутических расстройств, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Также примером настоящего изобретения является соединение формулы (I), или его соль или сольват, или фармацевтическая композиция, описанные в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата.

Дополнительным примером настоящего изобретения является соединение формулы (I), или его соль или сольват, или фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению для применения в лечении, предупреждении, уменьшении интенсивности проявления, в контроле или в снижении риска возникновения различных неврологических и психических расстройств, ассоциированных с нарушением функции фосфодиэстеразы 2 у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которых зависит от ингибирования фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Примером настоящего изобретения является соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соль или сольват согласно настоящему изобретению, или фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению для применения в лечении, предупреждении, уменьшении интенсивности проявления, в контроле или в снижении риска возникновения различных расстройств, выбранных из психотических расстройств и состояний; тревожных расстройств; двигательных расстройств; наркотической зависимости; аффективных расстройств; нейродегенеративных расстройств; расстройств или состояний, включающих в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; расстройств, связанных с запоминанием и консолидацией памяти; инсульта и аутического расстройства.

Примером настоящего изобретения является способ лечения расстройства, выбранного из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, умеренного когнитивного нарушения, старческого слабоумия, деменции, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, деменции, ассоциированной с инсультом, деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, и деменции, ассоциированной с отложением бета-амилоида, предпочтительно болезни Альцгеймера, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Другим примером настоящего изобретения является соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль или сольват, описанные в данном документе, для применения в лечении: (a) болезни Альцгеймера, (b) умеренного когнитивного нарушения, (c) старческого слабоумия, (d) деменции, (e) деменции с тельцами Леви, (f) синдрома Дауна, (g) деменции, ассоциированной с инсультом, (h) деменции, ассоциированной с болезнью Паркинсона, (i) деменции, ассоциированной с отложением бета-амилоида, (j) депрессивных расстройств и (k) тревожных расстройств у субъекта, нуждающегося в этом.

Описание графических материалов

На фиг. 1 показан эффект соединения 110 в отношении индукции с помощью слабой HFS долговременной потенциации (LTP) в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 2 показан план эксперимента для тета-импульсной стимуляции.

На фиг. 3 показан эффект соединения 70 в отношении индукции с помощью слабой HFS долговременной потенциации (LTP) в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 4 показан эффект соединения 25a в отношении индукции с помощью слабой HFS долговременной потенциации (LTP) в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 5 показан эффект соединения 220 в отношении индукции с помощью слабой HFS долговременной потенциации (LTP) в синапсе мшистых волокон.

На фиг. 6-15 (соединения 220, 110, 93, 32, 70, 25a, 281, 295, 356 и 335 соответственно) показано измерение уровней cGMP в CSF у собак породы Marshall Beagle. На фиг. 6-15 различные дозы тестовых соединений представлены следующим образом: ■ 0 мг/кг; ● 0,5 мг/кг; ◆ 0,75 мг/кг; ▲ 1 мг/кг; ▼ 1,25 мг/кг; ✖ 1,5 мг/кг; ▽ 2,5 мг/кг.

На фиг. 16 показаны кратковременные эффекты соединения 110 в отношении синаптической функции *in vivo* в синапсе коллатералей Шаффера (SC)-CA1. На фиг. 16a показано схематическое представ-

ление о расположении биполярного стимулирующего электрода в пути коллатералей Шаффера и монополярного регистрирующего электрода в stratum radiatum области Cornu Ammonis CA1 гиппокампа; на фиг. 16b показано краткое описание кривых I/O, полученных с помощью применения стимулов увеличивающейся интенсивности и измерения исходных наклонов полученного fEPSP, которые указывают на отсутствие отличий в основной возбудимости пути SC-CA1; на фиг. 16c показаны параметры морфологии ответа во время исходного уровня, через 30 мин после обработки и 30 мин после протокола тетанической HFS. Следует отметить сходство величины ответов fEPSP во время регистрации исходных уровней между группами обработки, которые увеличивались выше исходного уровня, и условия применения среды-носителя в группе, обрабатываемой соединением 110; на фиг. 16d показана зависимость от времени наклона fEPSP через 30 мин после регистрации исходного уровня, через 30 мин после введения соединения 110, и при этом применяли протокол тетанического HFS и записывали наклон fEPSP в течение еще 2 ч. Следует отметить, что соединение 110 в дозе 20 и 40 мг/кг усиливало базальную синаптическую передачу перед проведением протокола тетанического HFS и увеличивало наклон fEPSP на протяжении 2 ч после протокола HFS (вставленный график); на фиг. 16e показано, что при усреднении fEPSP в 30 мин периодах соединения 110 (40 мг/кг) обеспечивало повышение величины синаптической передачи, и различие с группой, обработанной средой-носителем, оставалось значительным. Значения выражены в виде процента от значений, зарегистрированных до HFS, и результаты представлены в виде средних значений $\pm$ SEM. Для сравнения групп применяли тесты с однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) и апостериорным анализом с наименьшей достоверной разностью (LSD).

На фиг. 16b и с диаграммы имеют следующие обозначения:

■ носитель (n=10); ■ ■ соединение 110 (мг/кг) (20) n=9; соединение 110 (мг/кг) (40) n=8.

На фиг. 16d и 16e диаграммы имеют следующие обозначения:

■ носитель (n=10); ■ ■ соединение 110 (мг/кг), (20) n=9; ■ ■ соединение 110 (мг/кг) (40) n=8.

Подробное описание изобретения определения

"C₁₋₄алкил", применяемый в данном документе отдельно или как часть другой группы, означает насыщенный, прямой или разветвленный углеводородный радикал, содержащий 1, 2, 3 или 4 атома углерода, такой как метил, этил, 1-пропил, 1-метил, бутил, 1-метилпропил, 2-метил-1-пропил, 1,1-диметилэтил и т.п. Термин "C₁₋₆алкил", применяемый в данном документе в качестве группы или части группы, означает насыщенный углеводородный радикал с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, такой как группы, определенные для C₁₋₄алкила, и н-пентил, н-гексил, 2-метилбутил и т.п. "C₁₋₄алкилокси" будет означать эфирный радикал, где C₁₋₄алкил является таким, как определено в данном документе. "C₁₋₆алкилокси" будет означать эфирный радикал, где C₁₋₆алкил является таким, как определено в данном документе. "Галоген" будет обозначать фтор, хлор или бром. "C₃₋₆циклоалкил" будет означать циклопропил, циклобутил, цикlopентил и циклогексил. "C₃₋₆циклоалкилокси" будет означать эфирный радикал, где C₃₋₆циклоалкил является таким, как определено в данном документе.

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

Предполагается, что формы N-оксидов соединений формулы (I) предполагают включение таких соединений формулы (I), в которых один или несколько атомов азота окислены до так называемого N-оксида, в частности, такие N-оксиды, в которых окислен атом азота в пиридинильном радикале. N-оксиды можно получать согласно процедурам, известным специалисту в данной области техники. Реакцию N-окисления, как правило, можно проводить путем осуществления реакции исходного вещества формулы (I) с соответствующим органическим или неорганическим пероксидом. Подходящие неорганические пероксиды включают, например, пероксид водорода, пероксиды щелочных и щелочноземельных металлов, например, пероксид натрия, пероксид калия; подходящие органические пероксиды могут включать пероксикислоты, такие как, например, бензолкарбопероксикислоты или галогензамещенные бензолкарбопероксикислоты, например, 3-хлорпероксибензойная кислота (или 3-хлорпербензойная кислота), пероксиалкановые кислоты, например пероксиуксусная кислота, алкилгидропероксиды, например трет-бутилгидропероксид. Подходящими растворителями например являются, например, вода, низшие алканола, например, этанол и т.п., углеводороды, например, толуол, кетоны, например, 2-бутанон, галогенированные углеводороды, например, дихлорметан, и смеси таких растворителей.

Таким образом, в конкретном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где R³ представляет собой Het, и Het представляет собой оксид необязательно замещенного пиридинильного радикала, описанного в данном документе, т.е. необязательно замещенный радикал в виде оксида пиридиния.

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

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

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

Ранее и далее в данном документе термин "соединение формулы (I)" следует понимать как включающее его соли присоединения, сольваты и стереоизомеры.

Термины "стереоизомеры" или "стереохимически изомерные формы" ранее и далее в данном документе используются взаимозаменяемо.

Настоящее изобретение включает все стереоизомеры соединения формулы (I) либо в виде чистого стереоизомера, либо в виде смеси двух или более стереоизомеров.

Энантиомеры представляют собой стереоизомеры, которые являются не совпадающими при наложении зеркальными отображениями друг друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров представляет собой рацемат или рацемическую смесь. Диастереомеры (или диастереоизомеры) представляют собой стереоизомеры, которые не являются энантиомерами, т.е. они не соотносятся как зеркальные отображения. Следовательно, настоящее изобретение включает энантиомеры, диастереомеры, рацематы.

В соединениях согласно настоящему изобретению связи, показанные в виде клина из параллельных линий ($\cdot\cdot\cdot\cdot$), представляют собой связи, проецируемые под плоскостью графического изображения, тогда как связи, показанные жирной клиновидной связью (—), представляют собой связи, проецируемые над плоскостью графического изображения.

Абсолютная конфигурация указана в соответствии с системой Кана-Ингольда-Прелога. Конфигурация при асимметричном атоме указывается как R или как S. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены как (+) или (-), в зависимости от направления, в котором они вращают плоскополяризованный свет.

Если указан конкретный стереоизомер, это означает, что указанный стереоизомер практически не содержит других изомеров, т.е. связан с менее 50%, предпочтительно с менее 20%, более предпочтительно с менее 10%, еще более предпочтительно с менее 5%, в частности с менее 2% и наиболее предпочтительно с менее 1% других изомеров. Таким образом, если соединение формулы (I) указано, например, как (R), это означает, что соединение практически не содержит (S)-изомера.

Кроме того, некоторые кристаллические формы соединений по настоящему изобретению могут существовать в виде полиморфов, и предполагается их включение как таковых в настоящее изобретение.

В дополнение, некоторые из соединений по настоящему изобретению могут образовывать сольваты с водой (т.е. гидраты) или обычными органическими растворителями, и подразумевается, что такие сольваты также охватываются объемом настоящего изобретения.

Что касается применения в медицине, соли соединений по настоящему изобретению относятся к нетоксичным "фармацевтически приемлемым солям". Однако при получении соединений согласно настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемых солей могут быть применимыми другие соли. Подходящие фармацевтически приемлемые соли соединений включают соли присоединения кислоты, которые могут быть образованы, например, путем смешивания раствора соединения с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, такой как хлористоводородная кислота, серная кислота, фумаровая кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, уксусная кислота, бензойная кислота, лимонная кислота, винная кислота, угольная кислота или фосфорная кислота. Кроме того, если соединения по настоящему изобретению имеют кислотный фрагмент, то их подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли щелочных металлов, например, соли натрия или калия; соли щелочноземельных металлов, например, соли кальция или магния; и соли, образованные с помощью пригодных органических лигандов, например, соли четвертичного аммония.

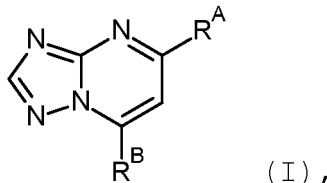
Типичные кислоты, которые можно применять при получении фармацевтически приемлемых солей, включают без ограничения следующие: уксусную кислоту, 2,2-дихлор уксусную кислоту, ацилированные аминокислоты, адипиновую кислоту, альгиновую кислоту, аскорбиновую кислоту, L-аспарагиновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, бензойную кислоту, 4-ацетамидобензойную кислоту, (+)-камфорную кислоту, камфорсульфоновую кислоту, капроновую кислоту, капроевую кислоту, каприловую кислоту, коричную кислоту, лимонную кислоту, цикламную кислоту, этан-1,2-дисульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 2-гидроксипропансульфоновую кислоту, муравьиную кислоту, фумаровую кислоту, галактаровую кислоту, гентизиновую кислоту, глюконовую кислоту, D-глюконовую кислоту, D-глюкуроновую кислоту, L-глутаминовую кислоту, бета-оксoglутаровую ки-

слоту, гликолевую кислоту, гиппуровую кислоту, бромистоводородную кислоту, хлористоводородную кислоту, (+)-L-молочную кислоту, (±)-DL-молочную кислоту, лактобионовую кислоту, малеиновую кислоту, (-)-L-яблочную кислоту, малоновую кислоту, (±)-DL-миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, нафталин-2-сульфоновую кислоту, нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту, 1-гидрокси-2-нафтойную кислоту, никотиновую кислоту, азотную кислоту, олеиновую кислоту, оротовую кислоту, щавелевую кислоту, пальмитиновую кислоту, памоевую кислоту, фосфорную кислоту, L-пироглутаминовую кислоту, салициловую кислоту, 4-аминосалициловую кислоту, себаиновую кислоту, стеариновую кислоту, янтарную кислоту, серную кислоту, дубильную кислоту, (+)-L-винную кислоту, тиоциановую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту, трифторметилсульфоновую кислоту и ундециленовую кислоту. Характерные основания, которые можно использовать при получении фармацевтически приемлемых солей, включают без ограничения следующие: аммиак, L-аргинин, бенетамин, бензатин, гидроксид кальция, холин, диметилэтанолламин, диэтанолламин, диэтиламин, 2-(диэтиламино)этанол, этаноламин, этилендиамин, N-метилглукламин, гидабамин, 1H-имидазол, L-лизин, гидроксид магния, 4-(2-гидроксиэтил)морфолин, пиперазин, гидроксид калия, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидин, вторичный амин, гидроксид натрия, триэтанолламин, трометамин и гидроксид цинка.

Названия соединений по настоящему изобретению составляли согласно правилам номенклатуры, согласованным Химической реферативной службой (CAS), с применением программного обеспечения от Advanced Chemical Development, Inc. (ACD/Name: версия продукта 10.01, сборка 15494, 1 декабря 2006 года; или ACD/ChemSketch: версия продукта 12.5, сборка 47877, 20 апреля 2011 года) или согласно правилам номенклатуры, согласованным Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC), с применением программного обеспечения от Advanced Chemical Development, Inc. (ACD/Name: версия продукта 10.01.0.14105, октябрь 2006 года). В случае таутомерных форм составляли название изображенной таутомерной формы структуры. Другая, не изображенная таутомерная форма также включена в объем настоящего изобретения.

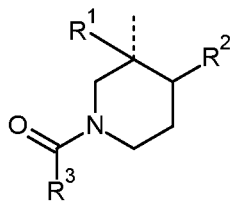
Настоящее изобретение направлено на соединения формулы (I), определенные в данном документе выше, и на их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на соединения формулы (I),

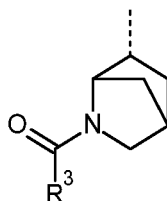


и их стереоизомерные формы, где

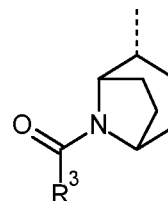
R^A выбран из группы, состоящей из H, CH_3 , CN и CHF_2 ; R^B представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из (a), (b) и (c):



(a) ,



(b) ,



(c) ,

где

R^1 представляет собой H, F или CH_3 ;

R^2 представляет собой H или C_{1-4} алкил, в частности, метил или н-бутил; при условии, что если R^2 представляет собой H, то R^1 представляет собой F или CH_3 ;

R^3 представляет собой Ar или Het; где

Ar представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; CN; OH; C_{1-6} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{1-6} алкила, замещенного CN; C_{3-6} циклоалкила и C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена;

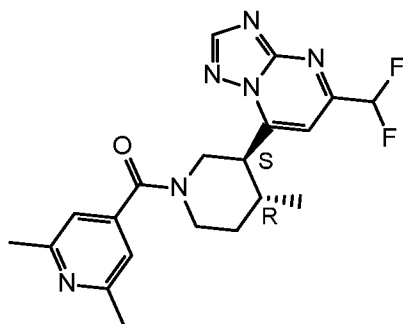
Het представляет собой (i) 5-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1H-пирролила; тиенила; фуранила; 1H-пиразолила; 1H-имидазолила; 1,2-оксазолила; 1,3-оксазолила и тиазолила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2, или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; $\text{NR}^{3A}\text{R}^{3B}$, где каждый из R^{3A} и R^{3B} независимо выбран из H и CH_3 ; и фуран-2-ила; или

(ii) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазанила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, где каждый из R^{4A} и R^{4B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; или

(iii) 8-10-членный бициклический частично ненасыщенный гетероцикл, выбранный из группы, состоящей из 2,3-дигидро-1-бензофуридила; 2Н-хроменила; 3,4-дигидро-2Н-хроменила; 2,3-дигидро-1Н-индолила, необязательно замещенного в положении 1 C_{1-4} алкилом, метилсульфонилом, 1-ацетилом или фторацетилом; 2,2-дифтор-1,3-бензодиоксолила; 1,3-бензодиоксолила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой метил; 5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-а]пиридинила; 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой атом галогена; и 2,3-дигидропиразоло[5,1-б][1,3]оксазолила; или

(iv) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуридила; 1-бензотиофенила; 1Н-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1Н-бензимидазолила; имидазо[1,2-а]пиридинила; пиразоло[1,5-а]пиридинила; 1Н-тиено[2,3-с]пиразолила; тиено[3,2-б]пиридинила; хинолинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, где каждый из R^{5A} и R^{5B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена;

при условии, что соединение не является



и их фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

В конкретном варианте осуществления R^A представляет собой CH_3 или CHF_2 ; и остальные переменные определены в данном документе.

В конкретном варианте осуществления R^B выбран из группы, состоящей из (a) и (c), и остальные переменные определены в данном документе.

В конкретном варианте осуществления R^A представляет собой CH_3 или CHF_2 ; R^B выбран из группы, состоящей из (a) и (c), и остальные переменные определены в данном документе.

В конкретном варианте осуществления R^1 представляет собой H, и R^2 представляет собой C_{1-4} алкил, в частности метил или н-бутил; и остальные переменные определены в данном документе.

В конкретном варианте осуществления R^3 представляет собой Het, и остальные переменные определены в данном документе.

В конкретном варианте осуществления R^3 представляет собой

(i) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазанила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, где каждый из R^{4A} и R^{4B} независимо выбран из H и CH_3 ;

C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; или

(ii) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуридила; 1-бензотиофенила; 1Н-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1Н-бензимидазолила; имидазо[1,2-а]пиридинила; пиразоло[1,5-а]пиридинила;

1Н-тиено[2,3-с]пиразолила; тиено[3,2-б]пиридинила;

хинолинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из

галогена; OH; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, где каждый из R^{5A} и R^{5B} независимо выбран из H и CH_3 ;

C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и остальные переменные определены в данном документе.

В дополнительном варианте осуществления R^3 представляет собой

(i) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазанила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; $\text{NR}^{4A}\text{R}^{4B}$, где каждый из R^{4A} и R^{4B} независимо выбран из H и CH_3 ;

C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; или

(ii) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуридила; 1-бензотиофенила; 1Н-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1Н-бензимидазолила; имидазо[1,2-а]пиридинила; пиазоло[1,5-а]пиридинила;

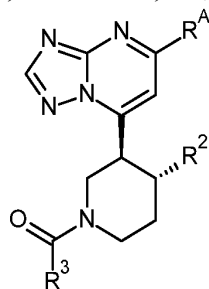
1Н-тиено[2,3-с]пиазололила; тиено[3,2-б]пиридинила;

хинолинила; 1,8-нафтиридинила; и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, где каждый из R^{5A} и R^{5B} независимо выбран из H и CH_3 ;

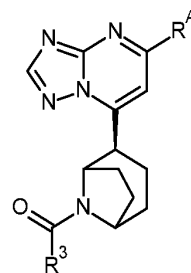
C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена;

и остальные переменные определены в данном документе.

В одном варианте осуществления соединение формулы (I), определенное в данном документе, представляет собой, в частности, соединение формулы (I-a) или (I-b),

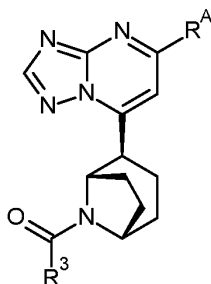


(I-a),



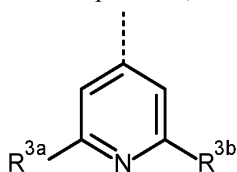
(I-b),

где все переменные определены в данном документе. Более конкретно соединение формулы (I), определенное в данном документе, характеризуется формулой (I-b1),

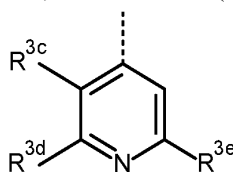


(I-b1)

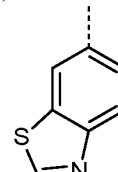
где все переменные определены в данном документе. В конкретном варианте осуществления R^3 представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из (3-a), (3-b) и (3-c):



(3-a),



(3-b),



(3-c);

где

каждый из R^{3a} и R^{3b} независимо выбран из группы, состоящей из водорода; галогена; CN; $NR^{4a}R^{4b}$, где каждый из R^{4a} и R^{4b} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила и C_{1-4} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и

R^{3c} выбран из группы, состоящей из F, Cl, C_{1-3} алкила, циклопропила, C_{1-3} алкилокси, циклопропилокси и CF_3 ; и каждый из R^{3d} и R^{3e} независимо выбран из группы, состоящей из водорода, Cl, CN, C_{1-3} алкила, циклопропила, C_{1-3} алкилокси, циклопропилокси, CHF_2 , CF_3 , $OCHF_2$ и OCF_3 ; при условии, что R^{3d} и R^{3e} не являются водородом одновременно.

В частности, каждый из R^{3a} и R^{3b} независимо выбран из группы, состоящей из водорода; хлора; $-NH_2$; C_{1-4} алкила; $-CF_3$; циклопропила; $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; $-OCHF_2$ и $-OCF_3$.

Более конкретно, каждый из R^{3a} и R^{3b} независимо выбран из группы, состоящей из хлора; C_{1-4} алкила; $-CF_3$; циклопропила; $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; $-OCHF_2$ и $-OCF_3$.

В частности, R^{3a} представляет собой Cl или CH_3 , и R^{3b} выбран из группы, состоящей из CH_3 , $-OCH_3$, $-CF_3$ и циклопропила.

В дополнительном варианте осуществления R^{3a} представляет собой Cl или CH_3 , и R^{3b} представляет собой CH_3 или $-OCH_3$.

В частности, R^{3c} выбран из группы, состоящей из F, CH_3 и $-OCH_3$; R^{3d} выбран из группы, состоящей из водорода, CH_3 , циклопропила и $-OCH_3$; и R^{3e} выбран из группы, состоящей из Cl, CH_3 , циклопропила, $-OCH_3$; $-OCH(CH_3)_2$; циклопропилокси; CHF_2 и $OCHF_2$. В дополнительном варианте осуществления R^{3c} представляет собой F.

В дополнительном варианте осуществления соединение в соответствии с настоящим изобретением представляет собой соединение, характеризующееся формулой (I-a), где R^2 представляет собой C_{1-4} алкил, в частности, метил или n-бутил.

Получение соединений

Экспериментальная процедура 1:

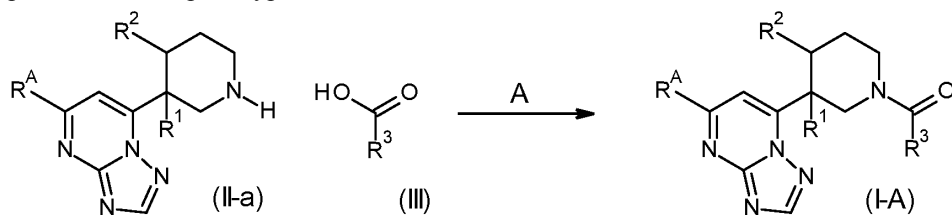


Схема реакции 1a:

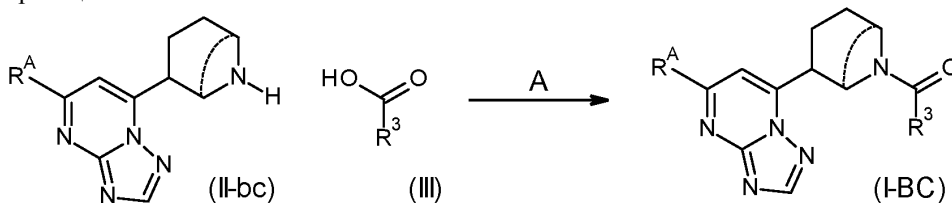


Схема реакции 1b.

A: сочетание с образованием амидной связи.

Конечные соединения, где R^B представляет собой радикал формулы (a) или формул (b) или (c), называемые в данном документе соединениями формулы (I-A) и формулы (I-BC), где — — — — представляет собой CH_2 или CH_2CH_2 соответственно, могут быть легко получены путем проведения реакции с подходящей карбоновой кислотой (III) с помощью следующих процедур сочетания, известных из уровня техники (стадия реакции A). Указанное превращение может быть легко осуществлено с помощью обработки функциональной группы пиперидинового типа в промежуточных соединениях формулы (II-a) или (II-b) с помощью средства для реакции сочетания, такого как HBTU или EDCI, в присутствии основания, такого как DIPEA и триэтиламин, в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как, например, DCM или DMF и т.п., при подходящей температуре, например при комнатной температуре; в качестве альтернативы можно проводить реакцию промежуточных соединений формулы (II-a) или (II-b) с фосфоновым ангидридом, таким как 1-пропанфосфоновый ангидрид, в присутствии подходящего основания, такого как триэтиламин, в подходящем реакционно-инертном растворителе, таком как, например, сухой ACN. Карбоновые кислоты формулы (III) либо являются коммерчески доступными, либо могут быть получены в соответствии с известными в данной области техники процедурами.

Экспериментальная процедура 2.

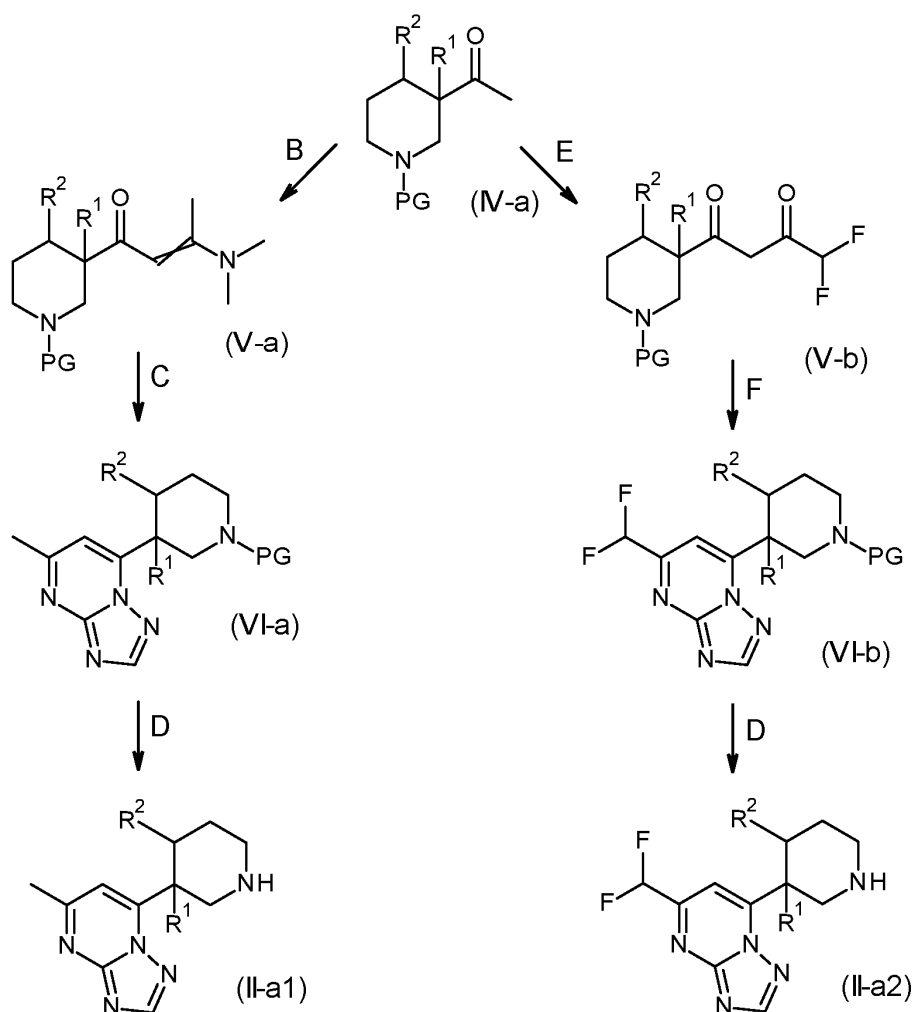


Схема реакции 2.

В: реакция с диметилацеталем N,N-диметилацетамида.

С, F: реакция с гидрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-амина.

D: отщепление защитной группы.

Е: реакция со сложным этиловым эфиром 2,2-дифторуксусной кислоты.

Получение промежуточных соединений формулы (II-a), например, где R^A представляет собой метил или CHF₂, называемых в данном документе промежуточными соединениями формулы (II-a1) и (II-a2) соответственно, может быть обеспечено из промежуточных соединений формулы (IV-a), где PG представляет собой подходящую защитную группу для аминогруппы, такую как, например, трет-бутилоксикарбонил (Boc).

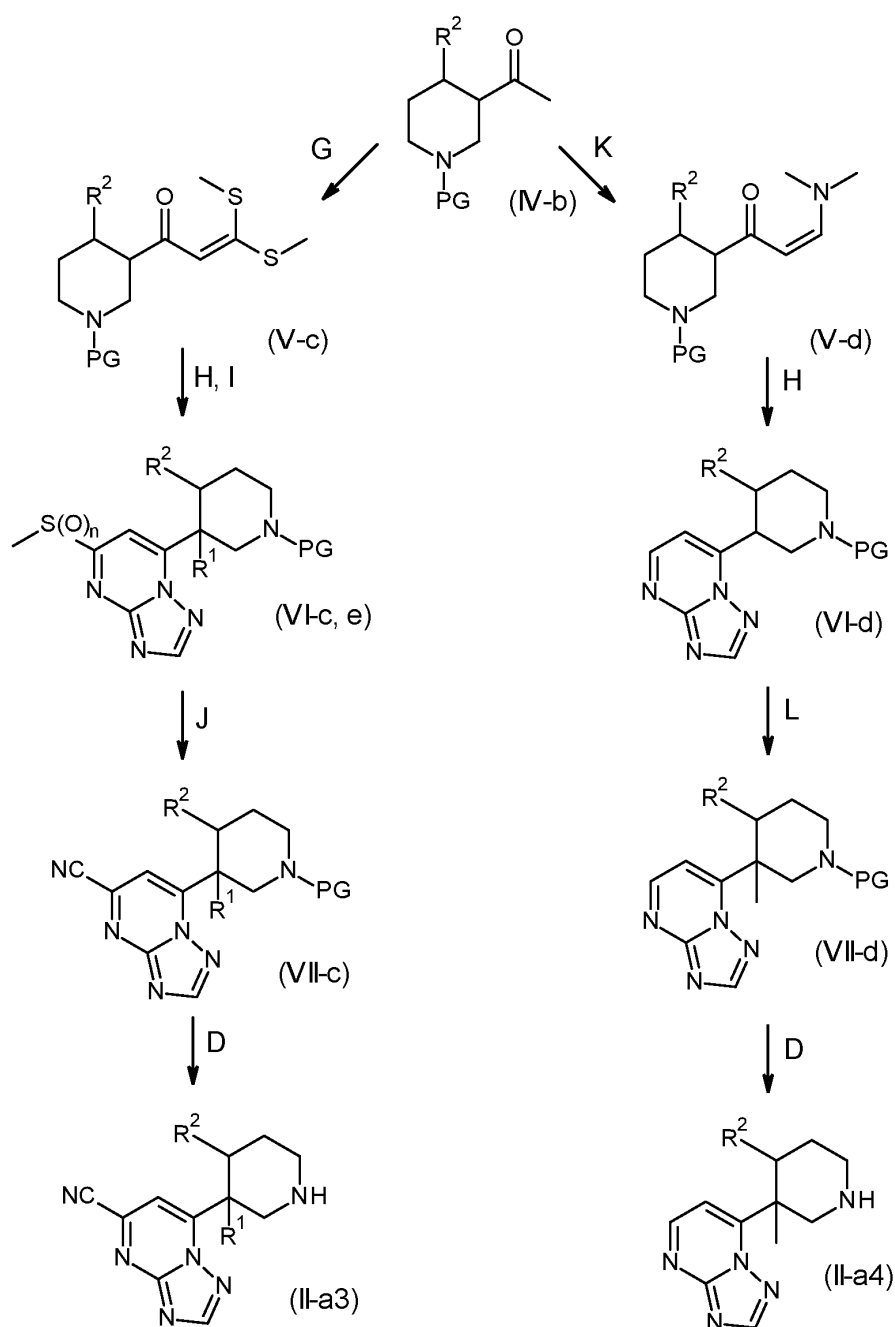
Реакцию с чистым диметилацеталем N,N-диметилацетамида можно проводить при температурных условиях, таких как, например, нагревание при 100°C.

Реакцию со сложным этиловым эфиром 2,2-дифторуксусной кислоты можно проводить в присутствии основания, такого как KO^tBu, в реакционно-инертном растворителе, таком как толуол, при подходящей температуре, такой как 0-5°C, затем при к.т.

Бициклическое ядро может быть образовано путем проведения реакции промежуточных соединений (V-a) или (V-b) с гидрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-амина в реакционно-инертном растворителе, таком как, например, DMF, при температурных условиях, таких как, например, нагревание при 80°C. В случае (V-b)-(VI-b) защитная группа может быть неустойчивой, и может потребоваться последующая стадия введения защитных групп.

Отщепление защитной группы в промежуточных соединениях (VI-a) или (VI-b) можно проводить в соответствии с процедурами, известными из уровня техники, например, если защитная группа представляет собой Boc, отщепление можно проводить в кислотных условиях, таких как, например, HCl в MeOH при к.т. или TFA в DCM.

Экспериментальная процедура 3.



Реакционная схема 3.

G: реакция с дисульфидом углерода и метилйодидом.

H, L: реакция с гидрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-амина.

I: окисление.

J: реакция с NaCN.

K: реакция с диметилацеталем N,N-диметилформамида.

L: метилирование.

D: отщепление защитной группы.

Промежуточные соединения формулы (II-a), где R^A представляет собой циано, называемые в данном документе (II-a3), или где R^A представляет собой водород и R¹ представляет собой метил, называемые в данном документе (II-a4), могут быть получены согласно сериям стадий синтеза из промежуточных соединений формулы (IV-b), которые либо являются коммерчески доступными, либо получены в соответствии с процедурами, известными в данной области техники (например, R²=H или метил, PG=Boc).

Таким образом, реакция с дисульфидом углерода, а затем с метилйодидом в присутствии основания, такого как NaNH, и реакционно-инертного растворителя, такого как THF, при 0°C обеспечивает получение (V-c), которое затем можно подвергать реакции с гидрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-5-амина при условиях, описанных в данном документе, с получением тем самым (VI-c, n=0), с последующим окисле-

нием с помощью подходящей пероксикислоты, такой как, например, mCPBA, в присутствии реакционно-инертного растворителя, такого как, например, DCM или CHCl_3 , с получением (VI-e, $n=2$). Замещение метилсульфоновой группы источником цианида, таким как, например, NaCN в DMSO, обеспечивает получение (VII-c), который можно подвергать отщеплению защитной группы при условиях, описанных в данном документе.

Реакцию чистого (IV-b) с диметилацеталем N,N-диметилформамида можно осуществлять при температурных условиях, таких как нагревание с обратным холодильником. Реакция с гидрохлоридом 1H-1,2,4-триазол-3-амин при условиях, описанных в данном документе, обеспечивает получение (VI-d), которое может быть метилировано в условиях, известных из уровня техники, таких как, например, с помощью подвергания его реакции с метилиодидом в присутствии основания, такого как NaH, в реакционно-инертном растворителе, таком как DMF. Последующее отщепление защитной группы при условиях, описанных в данном документе, обеспечивает получение промежуточного соединения (II-a4).

Экспериментальная процедура 4.

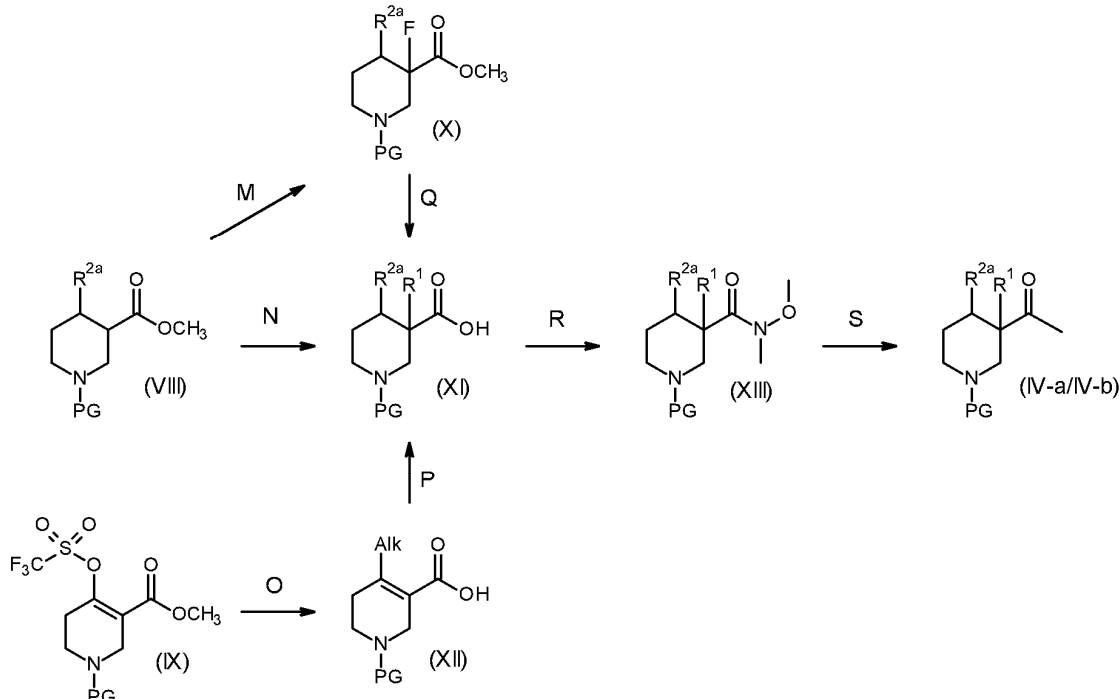


Схема реакции 4.

M: фторирование.

N: метилирование и/или омыление.

X: восстановление.

O: реакция Судзуки (алкилирование) и омыление.

P: гидрогенизация.

Q: омыление.

R: образование амида Вайнреба.

S: превращение амида в кетон (например, реакция Гриньяра).

Образование промежуточных соединений (IV-a) или (IV-b) можно проводить с помощью ряда взаимопревращений функциональных групп, исходя из промежуточных соединений (VIII), (IX) или (X), которые либо являются коммерчески доступными, либо могут быть получены, например, в соответствии с процедурами, такими как описанные в данном документе.

Соединения формулы (VIII), где R^{2a} представляет собой водород или метил, и PG представляет собой Boc, либо являются коммерчески доступными, либо получены в соответствии с рядом известных процедур, таких как описанные в данном документе. Их можно фторировать или алкилировать в соответствии с процедурами, известными из уровня техники, например с помощью реакции с N-фторбензолсульфонимидом в присутствии основания, такого как LDA, в реакционно-инертном растворителе, таком как THF, или путем алкилирования с помощью алкилйодида после обработки основанием, таким как LiHMDS; при этом необязательно последующее омыление при условиях, известных из уровня техники, обеспечивает получение (XI).

Соединения формулы (IX) также являются известными из уровня техники и их можно алкилировать посредством процедур типа реакции Судзуки, с применением условий, известных специалисту в данной области техники, таких как применение бороновой кислоты/сложного эфира, в присутствии катализатора, такого как $\text{Pd(PPh}_3)_4$, в реакционно-инертном растворителе, таком как 1,4-диоксан, при температур-

ных условиях, таких как нагревание. Последующее омыление и гидрогенизация в условиях, аналогичных описанным в данном документе, обеспечивают получение промежуточных соединений формулы (XI).

Последующее образование амида Вайнреба и превращение амида в кетон согласно реакции за Гриньяром, как описано в данном документе, обеспечивают получение необходимых промежуточных соединений (IV-a) или (IV-b).

Экспериментальная процедура 5.

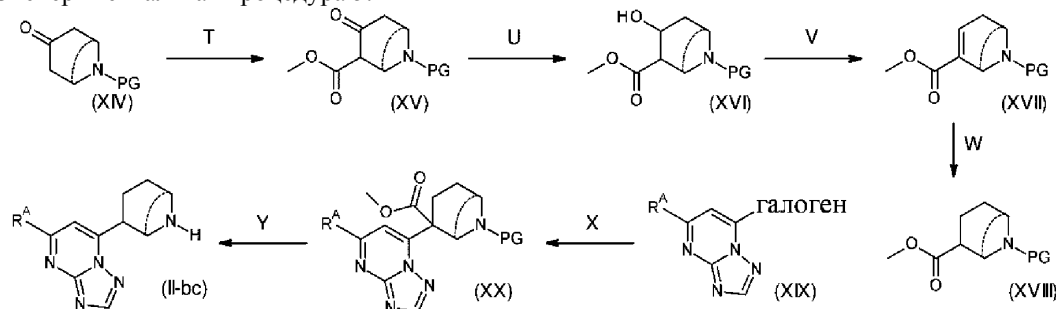


Схема реакции 5.

T: реакция с метилицианоформиаом.

U: восстановление.

V: дегидратация.

W: гидрогенизация.

X: сочетание.

Y: декарбоксилирование и отщепление защитной группы.

Образование промежуточных соединений формулы (II-bc), где ——— представляет собой CH_2 или CH_2CH_2 , может быть получено с помощью серий стадий синтеза, исходя из коммерчески доступных исходных веществ формулы (XIV), таких как N-Вос-нортропинон [185099-67-6] или 6-Вос-3-оксо-6-азабицикло[3.1.1]гептан [1246281-86-6]. Реакция с метилицианоформиаом в присутствии основания, такого как $n\text{BuLi}$ и NH^tPr_2 , в реакционно-инертном растворителе, таком как THF, при подходящей температуре, такой как при -78°C , обеспечивает получение сложного кетозфира (XV), который затем можно восстанавливать с помощью NaBH_4 при условиях, известных из уровня техники, например в MeOH при приблизительно 0°C , и затем дегидратировать, например трифторуксусным ангидридом, в присутствии основания, такого как триэтиламин и DMAP, в реакционно-инертном растворителе, таком как DCM, с поддержанием температуры ниже 60°C . Гидрогенизация при условиях, известных из уровня техники, таких как, например, в присутствии палладия на угле в MeOH как катализатора, обеспечивает получение промежуточного соединения (XVIII), которое затем можно подвергать реакции с промежуточными соединениями формулы (XIX), которые либо являются коммерчески доступными, либо получены в соответствии с процедурами, известными из уровня техники, в присутствии основания, такого как, например, LDA, в реакционно-инертном растворителе, таком как THF, при температуре от -78 до -60°C . Реакция с концентрированным HCl при температурных условиях, таких как, например, нагревание при 150°C , обеспечивает получение промежуточного соединения (II-bc) с одновременным отщеплением защитной группы, если она является кислотонестойчивой, такой как, например, Вос. Альтернативный путь получения промежуточного соединения формулы (II-bc), где R^A представляет собой CHF_2 , и ——— представляет собой CH_2CH_2 , из коммерчески доступного исходного вещества описан в данном документе в примерах.

Фармакология

Соединения в соответствии с настоящим изобретением ингибируют активность фермента PDE2, в частности PDE2A, и, следовательно, повышают уровни cAMP или cGMP в клетках, которые экспрессируют PDE2. Соответственно ингибирование активности фермента PDE2 может быть применимым в лечении заболеваний, обусловленных недостаточными количествами cAMP или cGMP в клетках. Ингибиторы PDE2 также могут быть полезны в тех случаях, когда повышение количества cAMP или cGMP выше нормальных уровней обеспечивает терапевтический эффект. Ингибиторы PDE2 можно применять для лечения неврологических и психических расстройств.

Следовательно, настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного препарата, а также к применению соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению, или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата. Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I), или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению, или к фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для применения в лечении или предупреждении, в частности в лечении, состояния у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которого зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им. Настоящее изобретение также относится к применению

соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению, или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения, в частности лечения, состояния у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которого зависит от ингибирования фермента фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I), или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению, или к фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для применения в лечении, предупреждении, уменьшении интенсивности проявления, в контроле или снижении риска возникновения различных неврологических и психических расстройств, ассоциированных с нарушением функции фосфодиэстеразы 2, у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которых зависит от ингибирования фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению, или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения, предупреждения, уменьшения интенсивности проявления, контроля или снижения риска развития различных неврологических и психических расстройств, ассоциированных с нарушением функции фосфодиэстеразы 2, у млекопитающего, в том числе у человека, лечение или предупреждение которых зависит от ингибирования фосфодиэстеразы 2 или облегчается им.

Если говорится, что настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или композиции согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата, например, для лечения субъекта, например млекопитающего, то подразумевается, что в определенных сферах такое применение следует понимать как способ, например, лечения субъекта, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в таком, например, лечении, эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или композиции согласно настоящему изобретению.

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

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

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

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

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

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

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

В частности, нейродегенеративные расстройства включают болезнь Паркинсона; болезнь Хантинг-

тона; деменцию, такую как, например, болезнь Альцгеймера; мультиинфарктную деменцию; СПИД-ассоциированную деменцию или лобно-височную деменцию. Нейродегенеративное расстройство или состояние включает дисфункцию реакций стриарных средних шипиковых нейронов.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

В настоящее время в четвертом издании Руководства по диагностике и статистике психических расстройств (DSM-IV) Американской психиатрической ассоциации представлен способ диагностики для идентификации расстройств, описанных в данном документе. Специалисту в данной области техники будет понятно, что для неврологических и психических расстройств, описанных в данном документе, существуют альтернативные системы номенклатуры, нозологические подходы и системы классификации, и что они видоизменяются вместе с прогрессом в области медицины и научным прогрессом. Например, в "American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition. Arlington, VA, American Psychiatric Association, 2013" (DSM-5™) используются термины, такие как депрессивные расстройства, в частности большое депрессивное расстройство, персистирующее депрессивное расстройство (дистимия), депрессивное расстройство, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; нейрокогнитивные расстройства (NCD) (как тяжелые, так и легкие), в частности, нейрокогнитивные расстройства, обусловленные болезнью Альцгеймера, сосудистое NCD (такое как сосудистое NCD, проявляющееся в виде множественных инфарктов), NCD, обусловленное ВИЧ-инфекцией, NCD, обусловленное травматическим повреждением головного мозга (TBI), NCD, обусловленное болезнью Паркинсона, NCD, обусловленное болезнью Хантингтона, лобно-височное NCD, NCD, обусловленное прионной болезнью, и NCD, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; нарушения нервно-психического развития, в частности, интеллектуальное нарушение, специфическое нарушение способности к обучению, нарушение нервно-психического развития двигательных функций, коммуникативное расстройство и синдром дефицита внимания/гиперактивности (ADHD); расстройства, связанные с употреблением определенных веществ, и аддиктивные расстройства, в частности расстройство, связанное с употреблением алкоголя, расстройство, связанное с употреблением амфетаминов, расстройство, связанное с употреблением марихуаны, расстройство, связанное с употреблением кокаина, расстройство, связанное с употреблением других галлюциногенных веществ, расстройство, связанное с употреблением табака, расстройство, связанное с употреблением опиоидов, и расстройство, связанное с употреблением фенциклидина; расстройства шизофренического спектра и другие психотические расстройства, в частности шизофрения, шизофреноформное расстройство, шизоаффективное расстройство, бредовое расстройство, кратковременное психотическое расстройство, психотическое расстройство, вызванное употреблением определенных веществ/лекарственных препаратов; и циклотимическое расстройство (которое согласно DSM-5™ подпадает под категорию биполярных и родственных им расстройств). Такие термины могут применяться специалистом в данной области в качестве альтернативной номенклатуры для некоторых заболеваний или состояний, упоминаемых в данном документе. Дополнительное нарушение нервно-психического развития включает расстройство аутистического спектра (ASD), которое согласно DSM-5™, охватывает расстройства, ранее известные под терминами ранний детский аутизм, детский аутизм, аутизм Каннера, высокофункциональный аутизм, атипичный аутизм, первазивное расстройство развития без дополнительных уточнений, дезинтегративное расстройство детского возраста и синдром Аспергера.

Следовательно, настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению для применения в лечении любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению для применения в лечении любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) или к его фармацевтически приемлемым соли или сольвату согласно настоящему изобретению для лечения или предупреждения, в частности лечения, любого из вышеупомянутых в данном документе заболеваний.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения любого из болезненных состояний, упомянутых в данном документе выше.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению для изготовления лекарственного препарата для лечения любого из болезненных состояний, упомянутых в данном документе выше.

Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль или сольват по настоящему изобретению можно вводить млекопитающим, предпочтительно людям, для лечения или предупреждения любого из заболеваний, упомянутых в данном документе выше.

Принимая во внимание полезность соединений формулы (I) и их фармацевтически приемлемых солей и сольватов согласно настоящему изобретению, предусмотрен способ лечения вышеупомянутого в данном документе расстройства или заболевания, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата, или фармацевтических композиций, описанных в данном документе.

Указанные способы предусматривают введение, т.е. системное или местное введение, предпочти-

тельно пероральное введение, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата согласно настоящему изобретению теплокровным животным, в том числе людям.

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

Описанный в данном документе ингибитор PDE2 можно применять отдельно, в комбинации или в комбинации с другими фармацевтическими средствами, такими как другие средства, применяемые в лечении психозов, таких как шизофрения и биполярное расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, болезнь Паркинсона, когнитивное нарушение и/или потеря памяти, например агонисты никотиновых ацетилхолиновых рецепторов α -7, ингибиторы PDE4 (ролипрам, GEBR-7b, GSK356278, GSK256066, апремиласт, МК-0952, рофлумиласт, AN2898, AN2728, Ariflo (циломиласт), дотраверин, рономиласт (элбимиласт), ревамиласт, тетомиласт, E6005, GDP-1116, HT0712, МК-0873), ингибиторы PDE5 (силденафил, варденафил, тадалафил, уденафил, аванафил, мироденафил, лоденафил, дазантафил, PF-00489791), PDE9 (PF-04447943), другие ингибиторы PDE2 (Bay 60-7550, PF-999, ND-7001), ингибиторы PDE10 (PF-02545920, AMG579), ингибиторы PDE2 и 10, блокаторы кальциевых каналов, модуляторы мускариновых ацетилхолиновых рецепторов m1 и m2, модуляторы аденозиновых рецепторов, ампакины, модуляторы NMDA-R, модуляторы mGluR, модуляторы дофаминовых рецепторов, модуляторы серотониновых рецепторов, модуляторы каннабиноидных рецепторов, ингибиторы HDAC (вориностат (SAHA), панобиностат, квизиностат, вальпроевая кислота) и ингибиторы холинэстеразы (например, донепезил, ривастигмин и галантамин). В случае таких комбинаций соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соль или сольват по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами в лечении, предупреждении, контроле, уменьшении интенсивности проявления или в снижении риска развития заболеваний или состояний, в отношении которых соединение формулы (I) или другие лекарственные средства могут быть полезными, при этом комбинация лекарственных средств, взятых вместе, является более безопасной или более эффективной, чем каждое из лекарственных средств отдельно.

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

Подходящей дозой обычно является доза, которая дает в результате концентрацию ингибитора PDE2 в обрабатываемом участке в диапазоне от 0,5 нМ до 200 мкМ и в более типичном случае от 5 нМ до 50 мкМ. Для достижения этих лечебных концентраций пациенту, нуждающемуся в лечении, вероятно, будут вводить от 0,001 до 15 мг/кг веса тела, в частности от 0,01 до 2,50 мг/кг веса тела, в частности от 0,01 до 1,5 мг/кг веса тела, в частности от 0,1 до 0,50 мг/кг веса тела. Количество соединения согласно настоящему изобретению, также называемого в данном документе активным ингредиентом, необходимое для достижения терапевтического эффекта, будет, конечно же, изменяться в каждом конкретном случае, изменяться в зависимости от конкретного соединения, пути введения, возраста и состояния пациента, получающего лечение, и конкретного расстройства или заболевания, подлежащего лечению. Способ лечения может также включать введение активного ингредиента согласно схеме от одного до четырех введений в сутки. В таких способах лечения соединение согласно настоящему изобретению предпочтительно составляют перед введением. Как описано в данном документе ниже, подходящие фармацевтические составы получают с помощью известных процедур с применением хорошо известных и общедоступных ингредиентов.

Фармацевтические композиции

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

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

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармацевтики. Терапевтически эффективное количество конкретно-

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

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

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

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

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

Количество соединения формулы (I), которое можно объединять с материалом носителя для получения лекарственной формы с однократной дозировкой, будет варьироваться в зависимости от заболевания, подвергаемого лечению, вида вскармливающего и конкретного способа введения. Однако в качестве общего руководства, подходящие стандартные дозы соединения по настоящему изобретению могут, например, предпочтительно содержать от 0,1 мг до приблизительно 1000 мг активного соединения. Предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 500 мг. Более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 300 мг. Еще более предпочтительная стандартная доза составляет от 1 мг до приблизительно 100 мг. Такие стандартные дозы можно вводить более одного раза в сутки, например, 2, 3, 4, 5 или 6 раз в сутки, но предпочтительно 1 или 2 раза в сутки, с тем, чтобы общая дозировка для взрослого человека весом 70 кг находилась в диапазоне от 0,001 до приблизительно

15 мг на кг веса субъекта в расчете на одно введение. Предпочтительная доза составляет от 0,01 до приблизительно 1,5 мг на кг веса субъекта в расчете на одно введение, и такая терапия может продолжаться в течение нескольких недель или месяцев, а в некоторых случаях в течение нескольких лет. Однако следует понимать, что определенный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от ряда факторов, в том числе активности определенного используемого соединения; возраста, веса тела, общего состояния здоровья, пола и режима питания индивидуума, подлежащего лечению; времени и пути введения; скорости выведения; других лекарственных средств, которые были введены ранее; и тяжести конкретного заболевания, подвергаемого терапии, что хорошо понятно специалистам в данной области.

Типичной дозировкой может быть одна таблетка, содержащая от 1 мг до приблизительно 100 мг или от 1 мг до приблизительно 300 мг, принимаемая один раз в сутки или несколько раз в сутки, или одна капсула или таблетка с медленным высвобождением, принимаемая один раз в сутки и характеризующаяся пропорционально более высоким содержанием активного ингредиента. Эффекта медленного высвобождения можно достигать с помощью материалов капсулы, которые растворяются при различных значениях pH, с помощью капсул с медленным высвобождением при осмотическом давлении или с помощью любых других известных средств, обеспечивающих контролируемое высвобождение.

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

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

Экспериментальная часть

Применяемый в данном документе термин "ACN" означает ацетонитрил, "AcOH" или "TFA" означает уксусную кислоту, "Boc" означает трет-бутилоксикарбонил, "Boc₂O" означает ди-трет-бутилдикарбонат, "д." означает день(дни), "DMAP" - 4-диметиламинопиридин, "DSC" означает дифференциальную сканирующую калориметрию, "LCMS" означает жидкостную хроматографию/масс-спектрометрию, "HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию, "RP HPLC" означает высокоэффективную жидкостную хроматографию с обращенными фазами, "водн." означает водный, "DCM" означает дихлорметан, "DIPE" означает диизопропиловый эфир, "DIPEA" означает диизопропилэтиламин, "DMF" означает N,N-диметилформамид, "DMSO" означает диметилсульфоксид, "EDCI" означает 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид, "EtOH" означает этанол, "Et₂O" означает диэтиловый эфир, "EtOAc" означает этилацетат, "Et₃N" или "TEA" означает триэтиламин, "HATU" означает гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридин-3-оксида, "HBTU" означает гексафторфосфат O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуридия, "LiHMDS" означает бис(триметилсилил)амид лития, "THF" означает тетрагидрофуран, "мин" означает минуты, "ч." означает часы, "mCPBA" означает 3-хлорпербензойную кислоту, "MeOH" означает метанол, "MTBE" означает метил-трет-бутиловый эфир, "Pd/C" означает палладий на угле, "Pd(PPh₃)₄" означает тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0), "iPrOH" означает 2-пропанол, "RM" или "реакц. см." означает реакционную смесь, "К.Т" или "к.т." означает комнатную температуру, "OL" означает органический слой, "R_t" означает время удерживания (в минутах), "колич." означает количественный, "насыщ." означает насыщенный, "SFC" означает сверхкритическую флюидную хроматографию, "раст." означает раствор, "т. пл." означает точку плавления, "q. s." означает достаточное количество.

Тонкослойную хроматографию (TLC) проводили на пластинах со слоем силикагеля 60 F254 (Merck) с применением химически чистых растворителей. Хроматографию на открытых колонках проводили на силикагеле с размером частиц 230-400 меш и размером пор 60 Å (Merck) в соответствии со стандартными методиками.

Автоматизированную колоночную флэш-хроматографию осуществляли с применением готовых к подключению картриджей от Merck на силикагеле с частицами неправильной формы с размером частиц, составляющим 15-40 мкм (одноразовые колонки для нормально-фазовой флэш-хроматографии), в системе SPOT или LAFLASH от Armen Instrument.

Если стереоцентр обозначается "RS", то это означает, что получали рацемическую смесь с указанным центром, если не указано иное. Стереохимическую конфигурацию центров для ряда соединений могли обозначать как "R" или "S", если смесь(смеси) была(были) разделена(разделены); для некоторых соединений стереохимическую конфигурацию в указанных центрах обозначали как "R" или "S", если абсолютная стереохимическая конфигурация не определена, хотя само соединение было выделено в виде отдельного стереоизомера и является энантиомерно/диастереомерно чистым.

Абсолютную стереохимическую конфигурацию для некоторых соединений определяли с помощью колебательного кругового дихроизма (VCD). Их измеряли на Bruker Equinox 55, оснащенном PMA 37, в жидкостной кювете с окном из KBr с применением CD₂Cl₂ в качестве растворителя (PEM: 1350 см⁻¹, LIA: 1 mV, разрешение: 4 см⁻¹). Описание применения VCD для определения абсолютной конфигурации можно найти в Dyatkin A.B. et. al., Chirality, 14:215-219 (2002). Расчеты ab initio: тщательный поиск в отно-

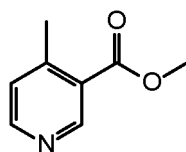
шении конформации выполняли на уровне молекулярной механики с применением MacroModel для осуществления отбора образцов при смешанном торсионном/низкочастотном режиме с применением силового поля OPLS-2005. Локализованные минимумы оптимизировали с применением Jaguar на уровне B3LYP/6-31G** в рамках континуальной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

Специалисту в данной области техники будет понятно, что соединения, синтезируемые с использованием указанных протоколов, могут существовать в виде сольвата, например гидрата, и/или могут содержать остаточный растворитель или незначительные примеси. Соединения, выделяемые в форме соли, могут характеризоваться целочисленным стехиометрическим индексом, т.е. представлять собой моно- или дисоли, или промежуточным стехиометрическим индексом.

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

А. Синтез промежуточных соединений.

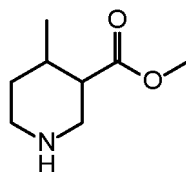
Промежуточное соединение 1.



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

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

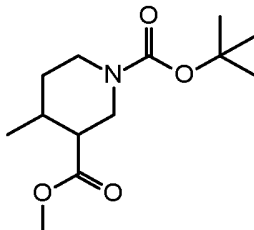
Промежуточное соединение 2.



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

Процедура б. Добавляли оксид платины (5 г, 0,022 моль) в раствор промежуточного соединения 1 (90 г, 0,595 моль) и AcOH (1 л). Реакц. см. перемешивали и гидрогенизировали в течение 5 дней при 50°C при давлении, составляющем 3,5 кПа. Охлажденную реакц. см. концентрировали in vacuo с получением промежуточного соединения 2 в виде соли уксусной кислоты (140 г, 97%, чистота 90%, определенная с помощью ^1H ЯМР).

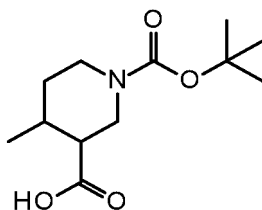
Промежуточное соединение 3.



Процедура а. В раствор промежуточного соединения 2 (52 г, 330,8 ммоль) в DCM (869 мл) добавляли DIPEA (85,5 г, 661,5 ммоль) и DMAP (4,04 г, 33,08 ммоль). Затем в данный раствор маленькими порциями добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (72,19 г, 330,8 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Реакц. см. промывали водой и соевым раствором и органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: DCM, 1% MeOH в DCM, 2%, 4%). Необходимые фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 3 (64,1 г, 75%).

Процедура б. В перемешанный и охлажденный (0°C) раствор промежуточного соединения 2 (140 г, 0,595 моль) в DCM (1,5 л) последовательно добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (130 г, 0,596 моль), Et_3N (225 г, 1,74 моль) и DMAP (10 г, 0,082 моль) и перемешивание продолжали при к.т. в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в H_2O (500 мл) и экстрагировали с помощью DCM (2×100 мл). Органические слои отделяли, высушивали (Na_2SO_4) и растворитель выпаривали с получением неочищенного промежуточного соединения 3 (150 г, 90%, чистота 90%, определенная с помощью 1H ЯМР), которое применяли далее как таковое.

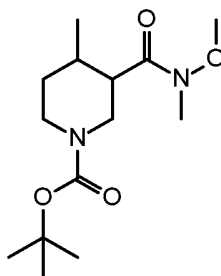
Промежуточное соединение 4.



Процедура а. Промежуточное соединение 3 (64,1 г, 249,1 ммоль) перемешивали в MeOH (500 мл) при к.т. Добавляли NaOH (2 М, 747,3 мл) и смесь перемешивали в течение 2 ч при к.т. Реакц. см. подкисляли с помощью 1 н. HCl и продукт экстрагировали с помощью Et_2O . OL промывали соевым раствором и высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 4 (59,70 г) в виде белого твердого вещества.

Процедура б. В перемешанный раствор промежуточного соединения 3 (150 г, чистота 90%, 0,524 моль) в MeOH (0,9 л) добавляли 2 М раствор NaOH (1,8 моль). Через 14 ч реакц. см. экстрагировали при к.т. с помощью МТВЕ (2×0,8 л). Водный слой подкисляли 10% лимонной кислотой и затем экстрагировали с помощью EtOAc (4×1 л). Объединенные органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали in vacuo с получением неочищенного промежуточного соединения 4 (142 г, чистота 90%, определенная с помощью 1H ЯМР, 100%), которое применяли как таковое на следующей стадии.

Промежуточное соединение 5.

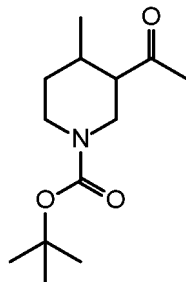


Процедура а. В раствор промежуточного соединения 4 (59,7 г, 0,25 моль) в THF (800 мл) добавляли ди-1H-имидазол-1-илметанон (54 г, 0,33 моль) и смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. В другой колбе в суспензию гидрохлорида N-метоксиметанамина (1:1) (32,93 г, 0,34 моль) в ACN (500 мл) добавляли триметиламин (35,75 г, 0,35 моль). Обе смеси объединяли и перемешивали при 50°C, осуществляя при этом контроль. Промежуточный продукт кристаллизовали из реакц. см., и он не вступал в реакцию с N-метоксиметаном для образования необходимого продукта. Добавляли DCM до тех пор, пока промежуточное соединение не растворялось. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 1 недели при 80°C. Растворители выпаривали. Остаток растворяли в DCM и промывали водой, 20% раствором AcOH и наконец насыщенным раствором NaHCO_3 . OL высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: 2% MeOH в

DCM, 4%). Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 5 (70 г, количественно).

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

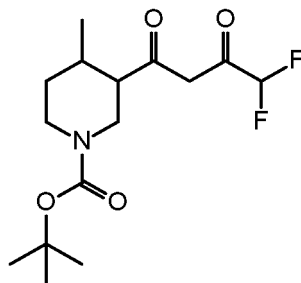
Промежуточное соединение 6.



Процедура a. Загружали промежуточное соединение 5 (70 г, 244,4 ммоль) в THF (250 мл) в колбу в атмосфере N₂ и охлаждали до -15°C. Добавляли по каплям метилмагнийбромид (1,4 М в смеси толуол/THF, 75/25, 206 мл) при температуре, не превышающей 0°C. После добавления реакц. см. перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Затем реакц. см. выливали на лед с 20 мл AcOH. Продукт экстрагировали с помощью Et₂O и OL промывали 5% раствором NaHCO₃. OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 6 (53,35 г, 90%).

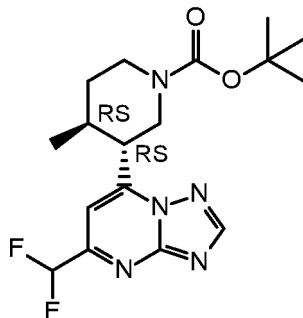
Процедура b. В перемешанный и охлажденный раствор (0°C) промежуточного соединения 5 (150 г, 0,524 моль) в THF (2 л) добавляли по каплям 3 М раствор метилмагнийбромида в THF (0,75 л, 2,25 моль) и перемешивание продолжали при к.т. в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в водный раствор NH₄Cl и экстрагировали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

Промежуточное соединение 7.



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

Промежуточное соединение 8.

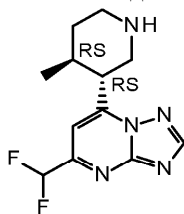


Перемешивали промежуточное соединение 7 (70,5 г, 220,8 ммоль), гидрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-амина (1:1) (53,22 г, 441,52 ммоль) и DMF (1500 мл) при 80°C в течение 24 ч. Добавляли Et₃N (20 г) и ди-

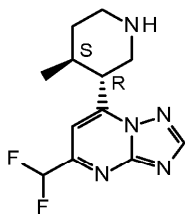
трет-бутилдикарбонат (20 г). Смесь перемешивали в течение 30 мин, выпаривали и затем растворяли в EtOAc, промывали водой и солевым раствором. OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали. Наблюдали четыре изомера. Первую фракцию кристаллизовали из Et_2O . Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 8 (24,60 г, 30%). Из маточного раствора получали вторую фракцию соединения. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 8 (2,53 г, 3%).

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

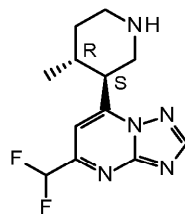
Промежуточные соединения 9, 9a и 9b.



Промежуточное
соединение 9



Промежуточное
соединение 9a

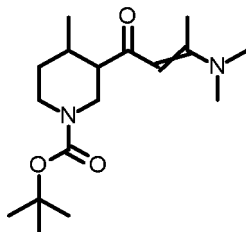


Промежуточное
соединение 9b

В раствор промежуточного соединения 8 (24,6 г, 67 ммоль) в MeOH (350 мл) добавляли HCl-iPrOH (350 мл) и реакц. см. перемешивали в течение 2 ч при к.т. Реакц. см. выпаривали и продукт кристаллизовали из EtOH. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением 20,33 г неочищенного вещества, к которому добавляли воду, Na₂CO₃ и DCM. OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением 12,80 г промежуточного соединения 9. Данное свободное основание разделяли на энантиомеры 9a и 9b путем очистки с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 30×250 мм; подвижная фаза: CO₂, ((MeOH - iPrOH 50/50) с 0,4% iPrNH₂) с получением промежуточного соединения 9a (5 г, 19%, R_f=7,57 мин) и промежуточного соединения 9b (5,13 г, 19%, R_f=9,36 мин).

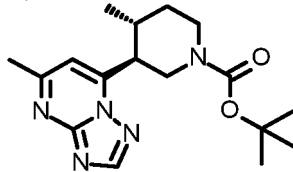
Промежуточные соединения 9a и 9b выделяли в виде свободных оснований или, в качестве альтернативы, их растворяли в MeOH с последующим добавлением HCl/i-PrOH и смесь выпаривали. Гидрохлоридные соли (в каждом случае .HCl) кристаллизовали из ACN, отфильтровывали и высушивали.

Промежуточное соединение 10.



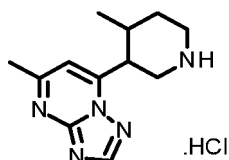
Перемешанную смесь I-6 (7,3 г, 0,03 моль) в диметилацетале N,N-диметилацетамида (20 мл, 0,91 г/мл, 0,14 моль) нагревали при 100°C в течение 4 ч. Реакц. см. концентрировали *in vacuo*, выпаривали совместно с толуолом (2×20 мл) с получением I-7 в виде коричневого остатка (9,4 г, выход 100,1%), который применяли как таковой на следующей стадии.

Промежуточное соединение 11 (I-11).



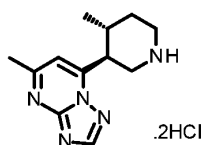
В смесь I-10 (9,4 г, 0,03 моль) в AcOH (50 мл, 1,05 г/мл, 1,75 моль) добавляли смесь 3-амино-1,2,4-триазола (2,68 г, 0,03 моль) в HOAc (50 мл, 1,05 г/мл, 1,75 моль) и обеспечивали нагревание реакц. см. на металлическом нагревательном блоке Drysyn® при температуре 130°C в течение 15 мин. Реакц. см. охлаждали, концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM (0,2 л) и обрабатывали с помощью 1 NaOH до pH~8. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (2×50 мл). Объединенные органические слои высушивали (MgSO₄), фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением темно-коричневого масла, которое очищали с помощью хроматографии на силикагеле с применением колонки для флэш-хроматографии Redisep® 120 г, с элюированием градиентом от 0 до 3% 7 н. NH₃/MeOH в DCM, с получением промежуточного соединения 11 в виде бежевого масла в виде смеси цис:транс-изомеров = ~1:4 (2,15 г, выход 21,42%).

Промежуточное соединение 12.

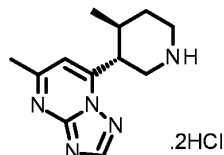


Перемешанную смесь I-11 (2,15 г, 0,0065 моль) в MeOH (50 мл, 0,79 г/мл, 1,23 моль) обрабатывали с помощью HCl (6 М в iPrOH) (50 мл, 6 М, 0,3 моль) и через 16 ч при к.т. реакц. см. концентрировали in vacuo с получением грязно-белого твердого вещества. Полученное растирали со смесью Et₂O (200 мл) и ACN (30 мл) в течение 16 ч. Твердое вещество собирали посредством фильтрации и высушивали с получением промежуточного соединения 12 в виде грязно-белого твердого вещества в виде смеси цис/транс-изомеров (18%/82%) (1,7 г, выход 97,87%).

Промежуточное соединение 12a и промежуточное соединение 12b.



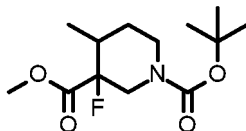
I-12a



I-12b

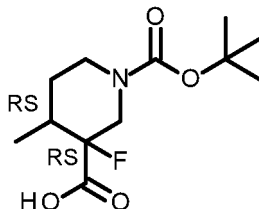
Перемешанную смесь I-11 (23 г, 0,0694 моль) в MeOH (165 мл) обрабатывали с помощью HCl (6 М в iPrOH) (165 мл, 6 М, 0,986 моль) и через 16 ч при к.т. реакц. см. концентрировали in vacuo с получением грязно-белого твердого вещества. Полученное разбавляли водой и DCM и обрабатывали с помощью Na₂CO₃. OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали in vacuo с получением остатка, который очищали с применением SCF (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, MeOH-iPrOH (50-50)+0,4% iPrNH₂) с получением промежуточных соединений 12a и 12b и. Их растворяли в MeOH (100 мл) и обрабатывали с помощью HCl (6 М в iPrOH) (100 мл) при 0°C в течение 2 ч. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и полученные остатки перемешивали при 0°C в Et₂O с получением промежуточного соединения 12a (9,25 г, 43%, R_t=3,54 мин, [α]²⁰_D=-17,47° (с 0,54, DMF)) и промежуточного соединения 12b (8,8 г, 42%, R_t=3,24 мин, [α]²⁰_D=+16,5° (с 0,52, DMF)).

Промежуточное соединение 13.



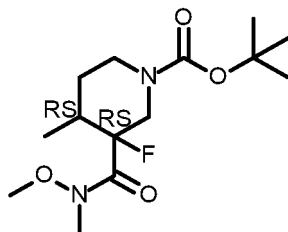
В раствор LDA (2 М в смеси THF/гептан/этилбензол, 42,7 мл, 2 М, 85,493 ммоль) в 100 мл THF (245 мл) добавляли по каплям раствор промежуточного соединения 3 (20 г, 77,721 ммоль) в THF (50 мл) при 0°C. Раствор перемешивали в течение 30 мин и затем переносили в раствор N-фторбензолсульфонида (30,6 г, 97,1 ммоль) в 100 мл THF при 0°C. Реакц. см. перемешивали в течение 15 мин при 0°C и затем при к.т. в течение ночи. Реакц. см. выпаривали, добавляли EtOAc и реакц. см. промывали последовательно водой, 0,1 н. раствором HCl, насыщенным раствором NaHCO₃ и соевым раствором. OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт очищали на силикагеле, элюент: DCM→1% MeOH в DCM. Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 13 (21,4 г, количественно).

Промежуточное соединение 14.



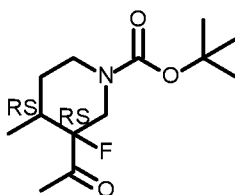
Раствор промежуточного соединения 13 (21,4 г, 77,728 ммоль) перемешивали в MeOH (500 мл) при к.т. Добавляли NaOH (486 мл, 2 М, 973 ммоль) и смесь перемешивали в течение 2 ч. при к.т. Реакц. см. подкисляли с помощью 1 н. HCl и продукт экстрагировали с помощью Et₂O. OL промывали соевым раствором и высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт очищали на силикагеле, элюент: DCM → 5% MeOH в DCM. Очищенные фракции выпаривали с получением 14 (15 г, 74%).

Промежуточное соединение 15.



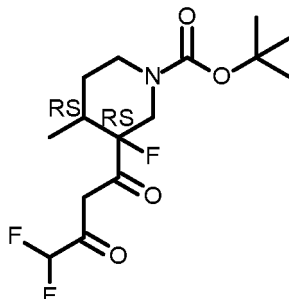
Промежуточное соединение 14 (15 г, 57,407 ммоль) растворяли в DCM (1000 мл). Затем добавляли гидрохлорид N,O-диметилгидроксиламина (11,2 г, 114,8 ммоль) и Et₃N (17,4 г, 172 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до 0°C. Затем добавляли HATU (24,0 г, 63,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакц. см. выливали в водн. раствор NaHCO₃ (100 мл). OL отделяли, высушивали с помощью MgSO₄ и растворитель выпаривали. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле, элюент: DCM→1% MeOH в DCM. Фракции с продуктом собирали и растворитель выпаривали с получением необходимого продукта 15 (8,49 г, 49%).

Промежуточное соединение 16.



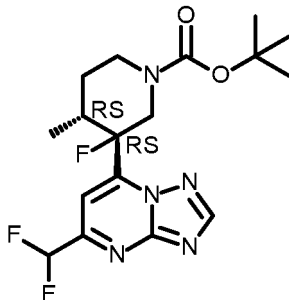
Промежуточное соединение 15 (8,49 г, 27,9 ммоль) в THF (60 мл) помещали в колбу в атмосфере N₂ и охлаждали до -15°C. Добавляли по каплям метилмагнийбромид (16,3 мл, 3 M, 48,8 ммоль), при этом температура не превышала 0°C. После добавления реакц. см. перемешивали в течение 1 ч при к.т. Затем реакц. см. выливали на лед с 20 мл AcOH. Продукт экстрагировали с помощью Et₂O и OL промывали 5% раствором NaHCO₃. OL высушивали над MgSO₄, фильтровали, и выпаривали, и очищали на силикагеле, элюент: DCM. Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 16 (3,20 г, 44%).

Промежуточное соединение 17.



Промежуточное соединение 16 (3,2 г, 0,0123 моль) перемешивали в толуоле (150 мл) при 0°C в атмосфере N₂. Добавляли трет-бутоксид калия (1,94 г, 17,3 ммоль) при 0-5°C, добавляли по каплям этилдифторацетат (1,84 г, 0,0149 моль) при 0-5°C. Реакц. см. перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакц. см. промывали с помощью 10% H₂SO₄ в воде и OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 17 (4,16 г, 99%).

Промежуточное соединение 18.

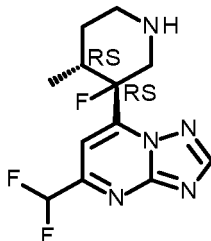


Промежуточное соединение 17 (4,16 г, 12,3 ммоль) и гидрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-амина (2,97 г, 24,7 ммоль) в DMF (40 мл) перемешивали при 80°C в течение 16 ч. Реакц. см. выпаривали, добавляли DCM и добавляли 2 г (Вос)₂O и 2 мл Et₃N.

Смесь перемешивали в течение 30 мин, промывали водой, OL высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт (4 изомера) очищали на силикагеле, элюент: DCM→2% MeOH в DCM. Фрак-

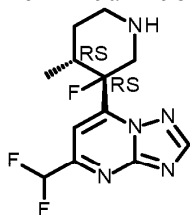
ции выпаривали с получением 3,55 г неочищенного вещества, которое очищали с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, 5 см, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN) с получением промежуточного соединения 18 (730 мг, 15%).

Промежуточное соединение 19.



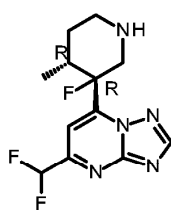
К промежуточному соединению 18 (0,73 г, 1,894 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли HCl (6 М в iPrOH) (20 мл, 6 М, 120 ммоль) и полученное перемешивали при к.т. в течение ночи. Растворители выпаривали с получением промежуточного соединения 19 (600 мг, 99%).

Альтернативная процедура получения промежуточного соединения 19 и разделение на промежуточные соединения 19а и 19b.



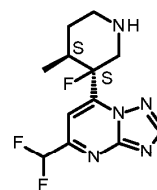
ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

19



ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

19а

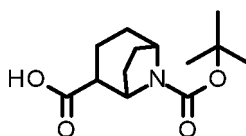


ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

19b

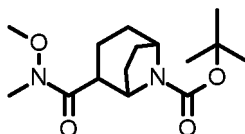
К промежуточному соединению 18 (4,5 г, 11,7 ммоль) в DCM (52 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (TFA) (6 М в iPrOH) (5,4 мл, 6 М, 70 ммоль) и полученное перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Растворители выпаривали и полученный остаток растворяли в DCM и промывали с помощью насыщенного водного раствора NaHCO_3 . OL отделяли и водный слой повторно экстрагировали 2 x DCM. Объединенные OL высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/ $\text{NH}_3(\text{MeOH})$ от 99/1 до 93/7 с получением промежуточного соединения 19 (2,2 г, выход 66%) в виде рацемической смеси. Полученное разделяли на энантиомеры с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20x250 мм, подвижная фаза: CO_2 , EtOH+0,4% iPrNH₂) с получением промежуточных соединений 19а (955 мг, 29%, R_t =2,36 мин) и 19b (970 мг, 29%, R_t =2,99 мин).

Промежуточное соединение 20.



Сложный 8-(1,1-диметилэтил)-2-метилловый эфир 8-азабицикло[3.2.1]октан-2,8-дикарбоновой кислоты [1033820-28-8] (4,77 г, 17,71 ммоль) перемешивали в MeOH (41,608 мл) при к.т. Добавляли NaOH (106 мл, 1 М, 106 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при к.т. Выпаривали MeOH. Реакц. см. подкисляли с помощью 1 н. HCl и продукт экстрагировали с помощью хлороформа. OL высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 20 (4,52 г, 100%).

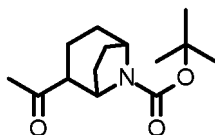
Промежуточное соединение 21.



Промежуточное соединение 20 (4,52 г, 17,704 ммоль) растворяли в DCM (200 мл). Затем добавляли гидрохлорид N,O-диметилгидроксиламина (3,454 г, 35,407 ммоль) и Et₃N (5,37 г, 53,1 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до 0°C. Затем добавляли HATU (7,41 г, 19,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в водн. раствор NaHCO_3 (100 мл). OL отделяли, высушивали с помощью MgSO_4 и растворитель выпаривали. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле, элюент: DCM→1% MeOH в DCM.

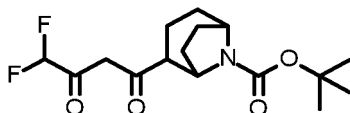
Собирали фракции с продуктом и выпаривали растворитель с получением промежуточного соединения 21 (3,03 г, 57%).

Промежуточное соединение 22.



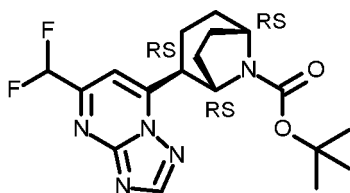
Промежуточное соединение 21 (3,03 г, 10,2 ммоль) в THF (50 мл) помещали в колбу в атмосфере N_2 и охлаждали до $-15^\circ C$. Добавляли по каплям метилмагнийбромид (12,7 мл, 1,4 М, 17,8 ммоль), при этом температура не превышала $0^\circ C$. После добавления реакц. см. перемешивали в течение 1 ч при к.т. Затем реакц. см. выливали на лед с AcOH (20 мл). Продукт экстрагировали с помощью Et_2O и OL промывали 5% раствором $NaHCO_3$. OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали, и выпаривали, и очищали на силикагеле, элюент: DCM. Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 22 (2,57 г, 100%).

Промежуточное соединение 23.



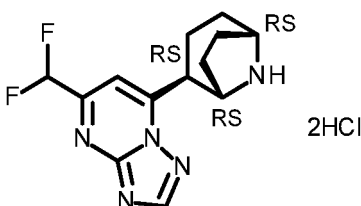
Промежуточное соединение 22 (2,57 г, 0,0101 моль) перемешивали в толуоле (150 мл) при $0^\circ C$ в атмосфере N_2 . Добавляли трет-бутоксид калия (1,59 г, 14,2 ммоль) при $0-5^\circ C$, добавляли по каплям этилдифторацетат (1,52 г, 0,0122 моль) при $0-5^\circ C$. Реакц. см. перемешивали при к.т. в течение 2 ч. Реакц. см. промывали с помощью 10% H_2SO_4 в воде и OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 23 (3,34 г, 99%).

Промежуточное соединение 24.



Промежуточное соединение 23 (3,34 г, 10,1 ммоль) и гидрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-амина (2,43 г, 20,2 ммоль) в DMF (30 мл) перемешивали при $80^\circ C$ в течение 16 ч. Реакц. см. выпаривали, добавляли DCM и добавляли 2 г $(Boc)_2O$ и Et_3N (2 мл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, промывали водой, OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали. Продукт (4 изомера) очищали на силикагеле, элюент: DCM $\rightarrow$ 2% MeOH в DCM. Фракции выпаривали с получением 3,07 г неочищенного вещества, которое очищали с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, MeOH) с получением промежуточного соединения 24 (1,07 г, 28%).

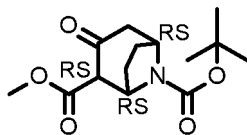
Промежуточное соединение 25.



К промежуточному соединению 24 (1,07 г, 2,82 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли HCl (6 М в iPrOH, 30 мл, 6 М, 179 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. Растворители выпаривали и продукт кристаллизовали из простого эфира. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением промежуточного соединения 25 в виде соли хлористоводородной кислоты (1,12 г, 112%).

Альтернативная процедура получения промежуточного соединения 25.

Стадия 1. Промежуточное соединение 43.

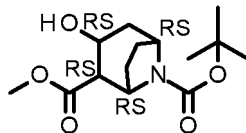


Добавляли н-бутиллитий ($nBuLi$, 106,5 мл, 266,3 ммоль, 2,5 М в гексанах) при $0^\circ C$ в раствор диизопропиламина (26,95 г, 266,3 ммоль) в THF (500 мл). Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 30 мин, затем ее охлаждали до $-78^\circ C$ и обрабатывали раствором N-Бос-нортропинона (50 г, 221,9 ммоль) в THF (75 мл). Полученную смесь перемешивали при $-78^\circ C$ в течение 90 мин, затем добавляли метилцианоформиат (22,9 мл, 288,5 ммоль). Обеспечивали нагревание реакц. см. до к.т. и ее перемешивали в

течение ночи.

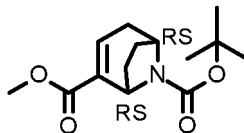
Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl , затем ее разбавляли с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, затем промывали водой и соевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 100% DCM до 1% MeOH в DCM, с получением промежуточного соединения 43 (60,25 г, 95,8%).

Стадия 2. Промежуточное соединение 44.



Добавляли борогидрид натрия (16,02 г, 423,5 ммоль) в холодный (ледяная баня) раствор промежуточного соединения 43 (60 г, 211,8 ммоль) в метаноле (700 мл) и обеспечивали перемешивание реакционной смеси в течение 5 ч. Завершенную реакцию гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl , затем растворитель выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в воде и экстрагировали с помощью 3 x DCM. Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением промежуточного соединения 44 (59 г, 97,6%), которое применяли как таковое без дополнительной очистки.

Стадия 3. Промежуточное соединение 45.

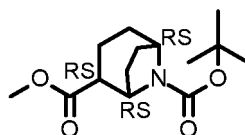


Очень медленно добавляли по каплям трифторуксусный ангидрид (57,5 мл, 413,5 ммоль)

(ВНИМАНИЕ! экзотермическая реакция) в раствор промежуточного соединения 44 (59 г, 206,8 ммоль), триэтиламина (115 мл, 827,1 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридина (2,52 г, 20,7 ммоль) в DCM (800 мл), с поддержанием температуры ниже 60°C . Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение ночи, затем ее охлаждали на ледяной бане и гасили водой.

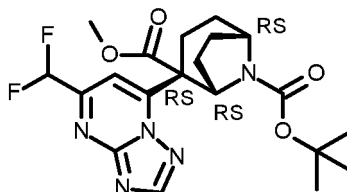
Регулировали pH полученного раствора до 8-8,5 с применением насыщенного водного раствора NaHCO_3 и обеспечивали его перемешивание при к.т. в течение 1 ч. Затем водный слой экстрагировали с помощью 3 x DCM, затем объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 100% DCM до 2% MeOH в DCM с получением промежуточного соединения 45 (33,7 г, 61%).

Стадия 4. Промежуточное соединение 46.



Добавляли MeOH (59 мл) в колбу, содержащую промежуточное соединение 45 (2,44 г, 9,13 ммоль) и Pd/C (10%) (0,971 г, 0,913 ммоль) в атмосфере азота. В полученном создавали вакуум и заполняли газовой водородом и его перемешивали при к.т. в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали через подушку из Celite®, затем растворитель удаляли *in vacuo*. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 100% DCM до 2% MeOH в DCM с получением промежуточного соединения 46 (2 г, 81%).

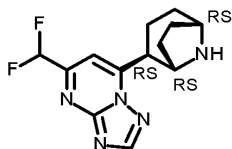
Стадия 5. Промежуточное соединение 47.



Добавляли по каплям LDA (54,3 мл, 108,7 ммоль, 2 М в смеси циклогексан/этилбензол/THF) при температуре от -78°C до -60°C к раствору промежуточного соединения 46 (24,4 г, 90,6 ммоль) в безводном THF (363 мл) в атмосфере азота. После добавления реакционную смесь нагревали до -30°C и перемешивали в течение 10 мин, после чего охлаждали обратно до -78°C . Растворяли 7-хлор-5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин ([1340394-63-9], 18,5 г, 90,6 ммоль) в минимальном количестве THF и добавляли по каплям с помощью шприца. Реакционную смесь перемешивали при -60°C в течение 1 ч, затем температуру повышали до к.т. и реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl . Летучие вещества выпаривали *in vacuo* и полученный остаток разделяли между EtOAc и

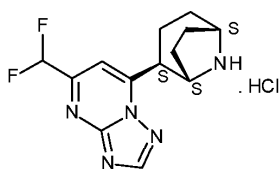
водой. Слои разделяли, затем водный слой экстрагировали с помощью 2 х EtOAc. Объединенные OL промывали солевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток кристаллизовали из диэтилового эфира с получением промежуточного соединения 47 (23,8 г, 60%). Фильтрат выпаривали и полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 100% DCM до 2% MeOH в DCM с получением промежуточного соединения 47 (2 г, 5%) после перекристаллизации из диэтилового эфира.

Стадия 6. Промежуточное соединение 25, промежуточное соединение 25a и промежуточное соединение 25b.



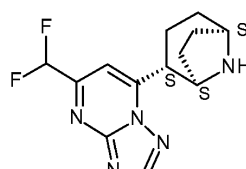
ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

25



ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

25a

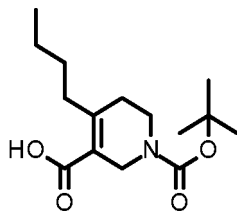


ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

25b

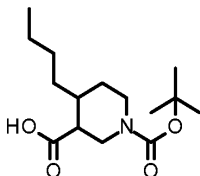
Перемешивали промежуточное соединение 47 (25,8 г, 58,9 ммоль) в концентрированном растворе HCl (266 мл, 3,19 моль, 37% в H_2O) при $150^\circ C$ в течение ночи. Летучие вещества выпаривали *in vacuo* и полученный остаток дважды выпаривали совместно с толуолом. Продукт обрабатывали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ до достижения основного pH. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, затем органический слой высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 100% DCM до 8% MeOH/ NH_3 в DCM с получением промежуточного соединения 25 в виде рацемической смеси (13 г, 79%). Данное вещество очищали с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak Diacel AD 20x250 мм, подвижная фаза: CO_2 , EtOH+0,4 iPrNH₂). Преобразовывали 1S,4S,5S-энантиомер в его соль HCl и перекристаллизовывали из CH_3CN с получением промежуточного соединения 25a (5,58 г, 30%, $R_t=2,91$ мин, $[\alpha]_D^{20} = -66,6$ ($c=0,48$, DMF)).

Промежуточное соединение 26.



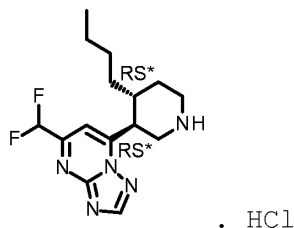
Перемешивали смесь 1-трет-бутил-3-метил-4-(((трифторметил)сульфонил)окси)-5,6-дигидропирдин-1,3(2H)-дикарбоксилата [161491-25-4] (15 г, 38,53 ммоль, получен в соответствии с Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 12942-12946), N-бутилбороновой кислоты [4426-47-5] (5,89 г, 57,8 ммоль), $Pd(PPh_3)_4$ [14221-01-3] (1,78 г, 1,54 ммоль) и Na_2CO_3 [497-19-8] (8,167 г, 77,052 ммоль) в 1,4-диоксане [123-91-1] (300 мл) и нагревали при $90^\circ C$ в течение ночи. Летучие вещества выпаривали *in vacuo* и полученный остаток обрабатывали с помощью 1 н. водного раствора HCl. Водный слой экстрагировали с помощью DCM, затем объединенные OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали *in vacuo*. Полученный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM-MeOH (9:1, об./об.)/DCM от 0/100 до 30/70. Таким образом получали 3,65 г 1-трет-бутил-5-метил-4-бутил-3,6-дигидро-2H-пиридин-1,5-дикарбоксилата, который растворяли в смеси метанола и 1 н. водного раствора NaOH (1:1, об./об., 200 мл) и перемешивали в течение ночи при к.т. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и полученный остаток помещали на лед и подкисляли 1 н. водным раствором HCl. Водный слой экстрагировали хлороформом, затем объединенные OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента от 1% MeOH в DCM до 2% MeOH в DCM с получением промежуточного соединения 26 (1,69 г, выход 15,5%).

Промежуточное соединение 27.



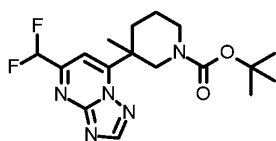
Промежуточное соединение 26 (1,47 г, 5,188 ммоль) добавляли к суспензии Pd/C (10%) (668 мг, 0,63 ммоль) в MeOH [67-56-1] (134 мл). Затем смесь помещали в атмосферу H₂ и перемешивали в течение 36 ч. По истечении этого времени катализатор фильтровали через подушку из Celite и выпаривали растворитель при пониженном давлении с получением промежуточного соединения 27 (1,45 г, 98%).

Промежуточное соединение 28.



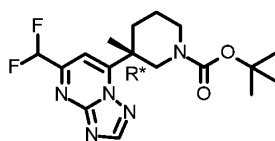
Согласно процедуре, подобной приведенной для синтеза промежуточного соединения 8, синтезировали промежуточное соединение 28, исходя из промежуточного соединения 27, с получением промежуточного соединения 28 (200 мг).

Промежуточные соединения 29, 29a и 29b.



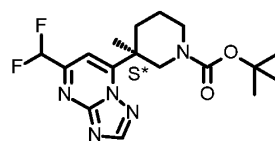
ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

29



ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

29a

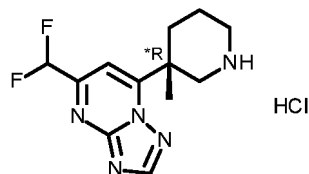


ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ

29b

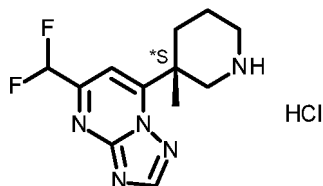
NaH (60% дисперсия в минеральном масле, 1,5 г, 39,05 ммоль) добавляли к раствору трет-бутил-3-[5-(дифторметил)-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиримидин-7-ил]пиперидин-1-карбоксилата, который получали аналогично промежуточному соединению 8 и 11, начиная из 3-пиридинкарбоновой кислоты (11,5 г, 32,54 ммоль) в DMF (500 мл) при к.т. и в потоке N₂. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при к.т, затем добавляли по каплям метилиодид (5,54 г, 39,05 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при к.т. Добавляли воду и продукт экстрагировали с помощью EtOAc. OL промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Полученный остаток очищали с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, MeOH) с получением промежуточного соединения 29 (4,32 г, 36%) в виде рацемической смеси. Полученное разделяли на энантиомеры с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel Diacel OJ 20×250 мм), подвижная фаза: CO₂, iPrOH+0,2% iPrNH₂) с получением промежуточных соединений 29a (2 г, 17%) и 29b (2 г, 17%).

Промежуточное соединение 30a.



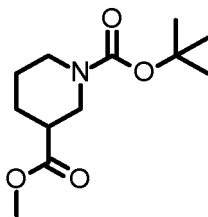
К промежуточному соединению 29a (500 мг, 1,36 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли HCl (6 М в iPrOH, 20 мл, 6 М, 120 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. Растворители выпаривали с получением промежуточного соединения 30a в виде соли хлористоводородной кислоты (400 мг, 97%).

Промежуточное соединение 30b.



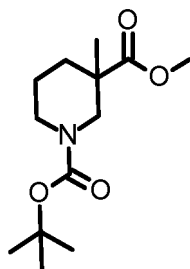
Промежуточное соединение 30b получали таким же образом, как описано для промежуточного соединения 30a, исходя из 29b (400 мг, 97%).

Альтернативная процедура получения промежуточного соединения 29.
Стадия 1. Промежуточное соединение 31.



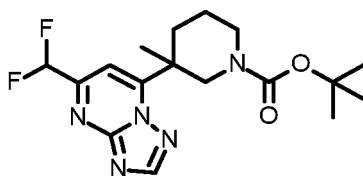
K_2CO_3 (33,15 г, 0,24 моль) добавляли к перемешанному раствору 1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-карбоновой кислоты [84358-12-3] (50,0 г, 0,22 моль) в DMF (600 мл) при к.т. Через 30 мин добавляли метилиодид (34,05 г, 0,24 моль) и реакционную смесь перемешивали еще в течение 2,5 ч при к.т. Летучие вещества выпаривали *in vacuo* и полученный остаток помещали в воду и экстрагировали с помощью DIPE. Объединенные OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали с получением 54,75 г промежуточного соединения 31, которое применяли как таковое на следующей стадии.

Стадия 2. Промежуточное соединение 32.



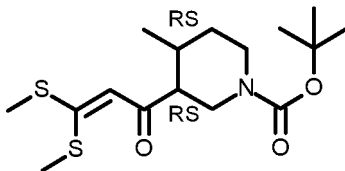
Добавляли по каплям LiHMDS (450 мл, 0,45 моль, 1 М) к раствору промежуточного соединения 31 (54,75 г, 0,22 ммоль) в THF (1 л) при $-78^\circ C$ и в атмосфере N_2 . Раствор перемешивали при $-78^\circ C$ в течение 1 ч и затем добавляли по каплям метилиодид (63,9 г, 0,45 ммоль) при данной температуре. После завершения добавления обеспечивали нагревание реакционной смеси до к.т. Затем реакц. см. обрабатывали насыщенным водным раствором NH_4Cl . Водный слой экстрагировали с помощью Et_2O . Объединенные OL высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии с применением в качестве элюента 20% раствора EtOAc в гептане с получением промежуточного соединения 32 (55,5 г, выход 96%).

Промежуточное соединение 29.



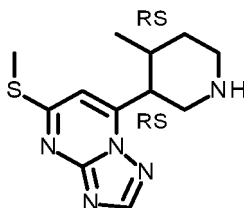
Согласно процедуре синтеза, подобной приведенной для синтеза промежуточного соединения 8, исходя из промежуточного соединения 32 получали промежуточное соединение 29 (36,7 г, выход 43,5%).

Промежуточное соединение 33.



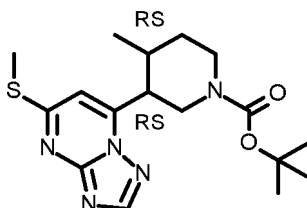
NaH (60% дисперсия в минеральном масле, 0,97 г, 24,2 ммоль) добавляли к промежуточному соединению 6 (5 г, 20,7 ммоль) в безводном THF (35 мл), в 250 мл четырехгорлой RBF, при $0^\circ C$ в потоке N_2 . Через 10 мин добавляли по каплям дисульфид углерода (1,46 мл, 24,1 ммоль) и затем добавляли по каплям метилиодид (2,71 мл, 43,5 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при к.т. Добавляли воду и продукт экстрагировали с помощью EtOAc. OL промывали солевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 33 (8,2 г, 92%), которое применяли как таковое на следующей стадии.

Промежуточное соединение 34.



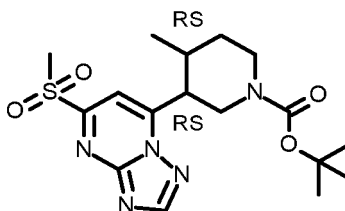
Промежуточное соединение 33 (1 г, 2,89 ммоль) и гидрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-амина (0,35 г, 2,89 ммоль) перемешивали при 150°C в течение 3 ч для прохождения реакции плавления. Реакц. см. охлаждали до к.т. и растворяли в DCM. OL промывали с помощью насыщ. водн. раств. NaHCO₃, воды, солевого раствора, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали. Продукт очищали на силикагеле, элюент DCM/MeOH от 100/0 до 98/2, с получением промежуточного соединения 34 (200 мг, 26%).

Промежуточное соединение 35.



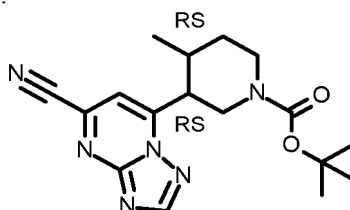
К промежуточному соединению 34 (200 мг, 0,76 ммоль) в DCM (3,3 мл) добавляли (Boc)₂O (199 мг, 0,91 ммоль), Et₃N (127 мкл, 0,91 ммоль) и реакц. см. перемешивали при к.т. в течение ночи. Выпаривали растворитель, затем остаток помещали в DCM и промывали водой (3×), затем соевым раствором. OL отделяли, высушивали (MgSO₄), фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 35 (199 мг, 72%), которое применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Промежуточное соединение 36.



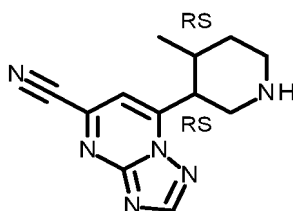
К промежуточному соединению 35 (347 мг, 0,95 ммоль) в CCl₃ (12 мл) добавляли mCPBA (659 мг, 3,82 ммоль) и реакц. см. нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч. Реакц. см. разбавляли CHCl₃, промывали с помощью 1 н. NaOH, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 36 (301 мг, 79%), которое применяли как таковое на следующей стадии.

Промежуточное соединение 37.



Промежуточное соединение 36 (799 мг, 2,02 ммоль) и цианид натрия (202 мг, 4,04 ммоль) перемешивали в DMSO (5 мл) при к.т. в течение 30 мин. Реакц. см. выливали в воду и экстрагировали с помощью EtOAc. OL промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 37 (550 мг, 80%), которое применяли как таковое на следующей стадии.

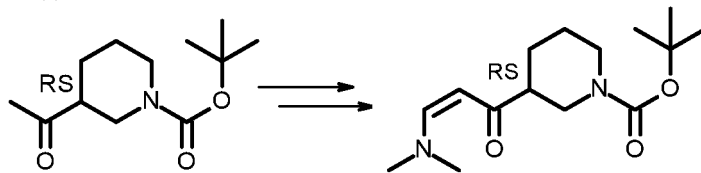
Промежуточное соединение 38.



К промежуточному соединению 37 (520 мг, 1,52 ммоль) в DCM (3,0 мл) добавляли TFA (6 мл) и реакц. см. перемешивали в течение 1 ч при 0°C. Реакц. см. выливали в насыщенный раствор Na₂CO₃, затем

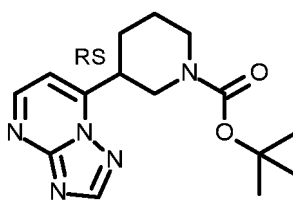
OL снова промывали с помощью насыщенного Na_2CO_3 , солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 38 (273 мг, 73%).

Промежуточное соединение 39.



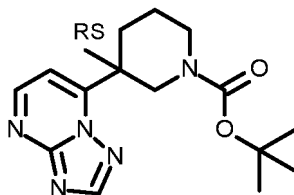
Промежуточное соединение 6' (полученное из промежуточного соединения 31 согласно тем же преобразованиям, что и для промежуточных соединений 3-6) (50 г, 0,22) добавляли к диметилацеталю N,N-диметилформамида (110 мл) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 4 дней. Реакционную смесь выпаривали и добавляли дополнительное количество диметилацетата N,N-диметилформамида и смесь нагревали с обратным холодильником в течение дополнительных 4 ч. Растворитель выпаривали и очищали продукт на силикагеле, элюент: 1% MeOH в DCM, 2%. Очищенные фракции выпаривали с получением промежуточного соединения 39 (60 г, 97%).

Промежуточное соединение 40.



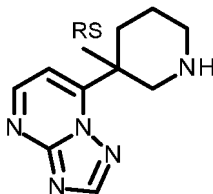
Раствор промежуточного соединения 39 (60 г, 0,21 моль) и гидрохлорид 1H-1,2,4-триазол-5-амина (22,3 г, 0,27 моль) в уксусной кислоте (53 мл) перемешивали с нагреванием с обратным холодильником в течение 1 ч. Добавляли воду и продукт экстрагировали с помощью простого эфира. OL промывали солевым раствором и высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали с получением промежуточного соединения 40 (62 г, 96%).

Промежуточное соединение 41.



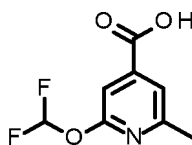
Промежуточное соединение 40 (500 мг, 1,65 ммоль) перемешивали в DMF (50 мл) при к.т. в потоке N_2 . Добавляли NaN (60% дисперсия в минеральном масле, 72 мг, 1,8 ммоль) и смесь перемешивали в течение 30 мин. Добавляли метилиодид (2,57 мг, 1,8 ммоль) и смесь перемешивали в течение 2 ч при к.т. Реакционную смесь гасили водой и выпаривали. Добавляли воду и продукт экстрагировали с помощью EtOAc. OL промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Полученное очищали с помощью препаративной HPLC на (RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, 5 см; подвижная фаза (0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, MeOH) с получением промежуточного соединения 41 (250 мг, 48%).

Промежуточное соединение 42.

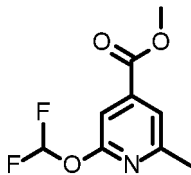


Промежуточное соединение 41 (200 мг, 0,85 ммоль) перемешивали в MeOH (20 мл) и добавляли 6 н. HCl в i-PrOH (23 мл). Смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакц. см. выпаривали с получением промежуточного соединения 42 (250 мг, 100%).

Промежуточное соединение 48.



Стадия 1. Промежуточное соединение 49.

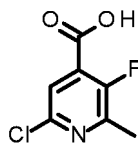


NaH (1,37 г, 34,4 ммоль, 60% дисперсия в минеральном масле) добавляли во взвесь метил-2-гидрокси-6-метилизоникотината (2,3 г, 13,76 ммоль) в ACN (150 мл) при 0°C и в атмосфере N₂. Обеспечивали достижение реакц. см. к.т. и перемешивали в течение 45 мин. Затем добавляли по каплям 2,2-дифтор-2-(фторсульфонил)уксусную кислоту (3,16 г, 17,76 ммоль) в реакционную смесь, которую дополнительно перемешивали при к.т. в течение 15 ч. По истечении этого времени ее гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl и полученную смесь экстрагировали с помощью DCM (100 мл ×3). Объединенные органические экстракты высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии с применением в качестве элюента градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 50/50 с получением промежуточного соединения 49 (2,21 г, 73,9%).

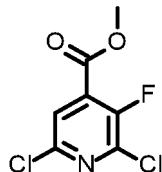
Стадия 2. Промежуточное соединение 48.

Водный раствор NaOH (15 мл, 15 ммоль, 1 М) добавляли в раствор промежуточного соединения 49 (2,11 г, 9,72 ммоль) в этаноле (15 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем ее обрабатывали водным раствором HCl (15 мл, 15 ммоль, 1 н.). Образовывался белый осадок и его фильтровали, промывали холодной водой, затем высушивали в вакуумной печи в течение ночи с получением промежуточного соединения 48 (1,75 г, 88,6%).

Промежуточное соединение 50.

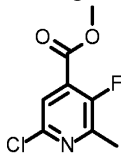


Стадия 1. Промежуточное соединение 51.

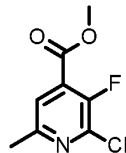


Концентрированную H₂SO₄ (0,791 мл, 4,85 ммоль, 1,84 г/мл) добавляли к раствору 2,6-дихлор-3-фторизоникотиновой кислоты ([149468-00-8], 5,5 г, 26,19 ммоль) в MeOH (99 мл) и полученную смесь нагревали до 85°C в течение 12 ч. По истечении этого времени добавляли дополнительное количество H₂SO₄ (0,791 мл, 4,85 ммоль, 1,84 г/мл) и реакц. см. перемешивали при 90°C в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали до к.т., выпаривали растворитель и добавляли лед к полученному остатку. Образовывался осадок и его фильтровали, промывали ледяной водой и высушивали в вакуумной печи в течение 2 дней с получением промежуточного соединения 51 (4,35 г, 19,4 ммоль) в виде бежевого твердого вещества.

Стадия 2. Промежуточные соединения 52a и 52b.



ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ 52a



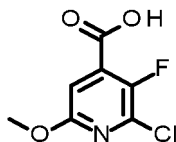
ПРОМЕЖУТОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ 52b

Раствор промежуточного соединения 51 (3,95 г, 17,6 ммоль) и триметилбороксина (1,66 мл, 5,82 ммоль, 3,5 М в THF) в безводном 1,4-диоксане (128 мл) дегазировали в течение 15 мин. Последовательно добавляли ацетат палладия(II) (198 мг, 0,88 ммоль), трициклофенилфосфин (494 мг, 1,76 ммоль) и трехосновный фосфат калия (11,23 г, 53,0 ммоль) и полученную смесь дегазировали, затем перемешивали и нагревали при 110°C в течение 18 ч в пробирке для проведения реакций под давлением. Реакц. см. охлаждали до к.т. и выпаривали растворитель in vacuo. Полученный остаток разделяли между водой и EtOAc. Полученную двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1×), высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали растворитель in vacuo. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 90/10 с получением промежуточного соединения 52a (980 мг, 27%) и его региоизомера 52b (460 мг, 12,8%).

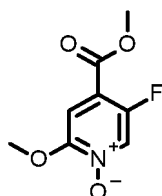
Стадия 3. Промежуточное соединение 50.

К перемешиваемому раствору промежуточного соединения 52a (785 мг, 3,85 ммоль) в THF (10 мл) добавляли раствор LiOH (277 мг, 11,5 ммоль) в воде (10 мл). Реакц. см. перемешивали при к.т. в течение 1,5 ч, затем выпаривали летучие вещества *in vacuo*. pH полученного водного остатка доводили до ~2 за счет обработки водным раствором HCl (1 М). Образовывался белый осадок и его фильтровали, промывали ледяной водой и высушивали в вакуумной печи в течение 2 дней с получением промежуточного соединения 50 (491 мг, 67%) в виде белого твердого вещества.

Промежуточное соединение 53.



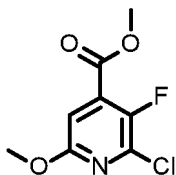
Стадия 1. Промежуточное соединение 54.



К холодному (0°C) раствору метил-5-фтор-2-метоксиизоникотината (4 г, 21,6 ммоль) в DCM (71 мл) добавляли одной порцией метилтриоксорений(VII) (0,443 г, 1,78 ммоль) с последующим добавлением по каплям пероксида водорода (64,3 мл, 0,735 моль, 35% в воде). Реакц. см. оставляли нагреваться до к.т. и затем нагревали до 35°C. Через 24 ч добавляли дополнительное количество метилтриоксорения(VII) (0,2 г, 0,80 ммоль) и реакц. см. оставляли перемешиваться при 35°C на 2 дня.

Порциями, 3× за 8 ч, добавляли метилтриоксорений(VII) (0,2 г, 0,802 ммоль) и пероксид водорода (30 мл, 0,343 моль, 35% в воде) и реакц. см. перемешивали при 27°C в течение 16 ч. Реакц. см. охлаждали на ледяной бане, затем ее гасили путем добавления порциями диоксида марганца (ВНИМАНИЕ! Сильное выделение газа и тепла) до прекращения выделения газа с получением черной смеси. Полученное объединяли с другой партией реакционной смеси, полученной в результате реакции, начинающейся с 1 г метил-5-фтор-2-метоксиизоникотината. Объединенные реакционные смеси фильтровали через пробку из Celite®, который промывали с помощью DCM. Двухфазный фильтрат разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали *in vacuo*. Полученный остаток (4,9 г) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 0/100 с получением промежуточного соединения 54 (585 мг).

Стадия 2. Промежуточное соединение 55.

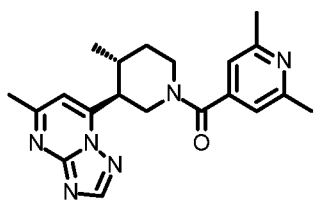


Суспензию промежуточного соединения 54 (585 мг, 2,91 ммоль) в оксихлориде фосфора (4,1 мл, 43,6 ммоль) перемешивали и нагревали до 105°C на масляной бане. Через 1,5 ч растворитель удаляли *in vacuo*. К полученному остатку добавляли лед (10 мл) и водную смесь экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄ и выпаривали *in vacuo*. Полученный остаток (580 мг) очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента гептан/DCM от 100/0 до 50/50 с получением промежуточного соединения 55 (522 мг, 72,7%).

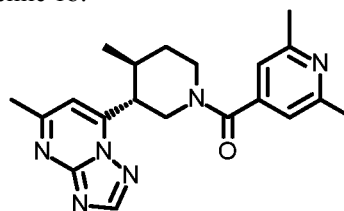
Стадия 3. Промежуточное соединение 53.

Раствор LiOH (152 мг, 6,35 ммоль) в воде (5,7 мл) добавляли к перемешиваемому раствору промежуточного соединения 55 (522 мг, 2,12 ммоль) в THF (5,7 мл). Реакц. см. перемешивали при к.т. в течение 1,5 ч, затем выпаривали летучие вещества *in vacuo*. pH полученного водного остатка доводили до ~3 за счет обработки водным раствором HCl (1 М). Образовывался белый осадок и его фильтровали, промывали ледяной водой и высушивали в вакуумной печи с получением промежуточного соединения 53 (172 мг, 39%) в виде белого твердого вещества. Фильтрат выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении с получением литиевой соли соединения 53 (366 мг).

В. Синтез конечных соединений. Соединение 1a и соединение 1b.



Соед. № 1a



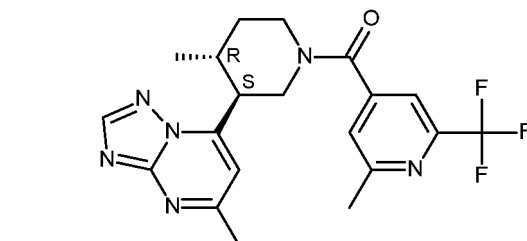
Соед. № 1b

Смесь I-12 (0,27 г, 0,001 моль) и 2,6-диметилизоникотиновой кислоты (0,16 г, 0,001 моль) в DCM (10 мл) обрабатывали с помощью DIPEA (0,69 мл, 0,75 г/мл, 0,004 моль) и HBTU (0,38 г, 0,001 моль). Перемешивание продолжали в течение 16 ч. Реакц. см. разбавляли водой (5 мл), подкисляли с помощью 1 М HCl до pH~3, и слои разделяли, и OL промывали с помощью 1 М NaOH до достижения pH~9, водой, затем высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла (0,8 г). Очистку проводили с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD-10 мкм, 50×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, MeOH) с получением двух фракций. Очистку проводили с применением Prep SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH с 0,4% iPrNH₂) с получением 4 фракций, две из которых обеспечивали получение соединения 1b (64 мг, 18%) и 1a (70 мг, 19%).

Соединения 2a-3b получали аналогичным путем, что и соединения 1a и 1b, из указанного исходного вещества.

№ соед.	Структура	Получен из	Выход (%)
2a		I-12a	82
2b			82
3a		I-12a [802256-42-4]	12
3b		I-12b	

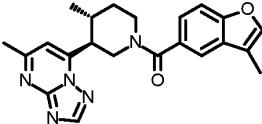
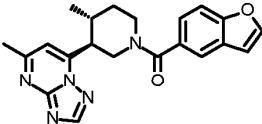
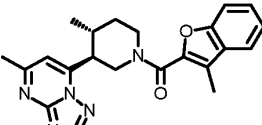
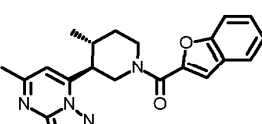
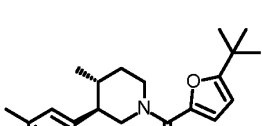
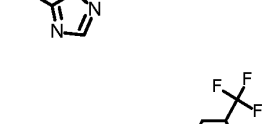
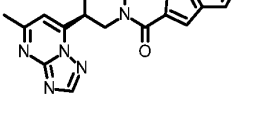
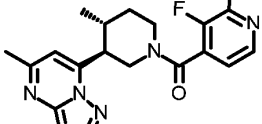
Соединение 4.



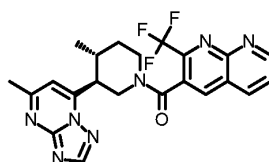
2-Метил-6-(трифторметил)изоникотиновую кислоту (101 мг, 0,493 ммоль) перемешивали в DCM (20 мл). Добавляли DIPEA (0,34 мл, 0,75 г/мл, 1,97 ммоль) и HBTU (206 мг, 0,542 ммоль), перемешивание продолжали в течение 20 мин при к.т. Добавляли I-13a (150 мг, 0,493 ммоль) и перемешивание продолжали в течение ночи при к.т. Реакц. см. гасили водой, перемешивали 20 мин, затем отделяли OL. Водный слой повторно экстрагировали с помощью 2 x DCM. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, затем разделяли и высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Данное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле с элюированием от 0 до 5% MeOH в DCM с получением неочищенного соединения 4 (120 мг, выход 52,931%). Очистку прово-

дили с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP Vydac Denali C18-10 мкм, 200 г, I.D. 5 см., подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, MeOH) с получением после выпаривания совместно с MeOH и высушивания в вакуумной печи в течение ночи соединения 4 (74 мг, 36%).

Соединения 5-23 получали подобно соединению 6 с применением энантимерно чистого промежуточного соединения I-13a.

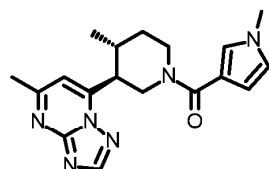
№ соед.	Структура	Выход (%)
5		54
6		61
7		56
8		48
9		58
10		8
11		10
12		57

13



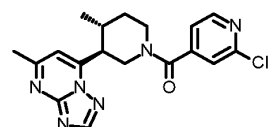
55

14



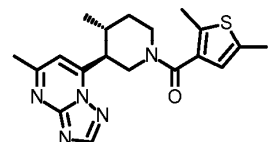
45

15



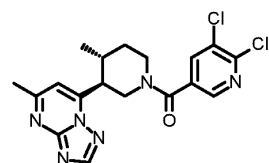
11

16



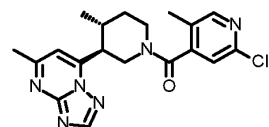
48

17



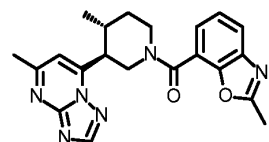
7, 8

18



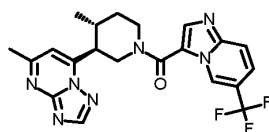
19

19



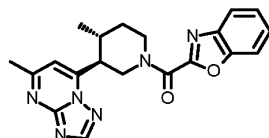
55

20



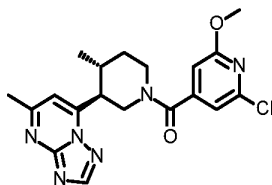
50

21



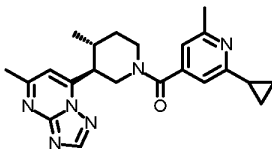
42

22



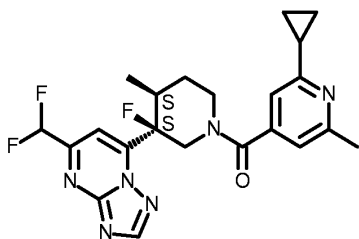
58

23

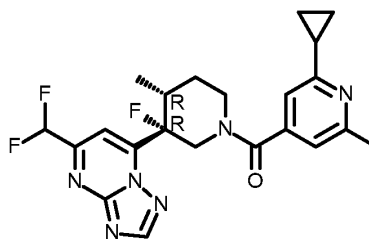


52

Соединение 24a и соединение 24b.



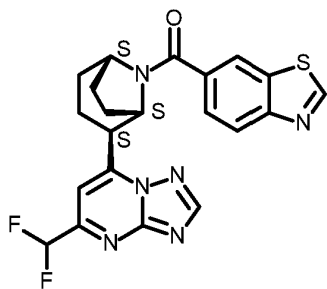
Соед. № 24a



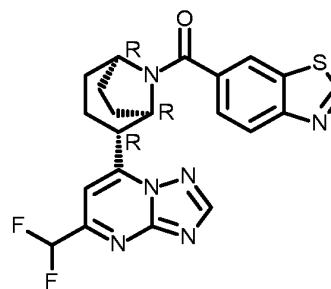
Соед. № 24b

К перемешанной смеси 2-циклопропил-6-метилпиридин-4-карбоновой кислоты (0,16 г, 0,00075 моль) в DCM (20 мл, 1,33 г/мл, 0,31 моль) добавляли HBTU (0,28 г, 0,00075 моль) и DIPEA (0,54 мл, 0,75 г/мл, 0,0031 моль). После перемешивания смеси в течение 30 мин добавляли одной порцией 1-19 (0,2 г, 0,00062 моль). Реакц. см. оставляли перемешиваться на 1 ч и затем добавляли 1 М NaOH (5 мл), слои разделяли и OL промывали водой (10 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением масла. Полученное очищали с помощью флэш-хроматографии с применением колонки для флэш-хроматографии Redisep® 24 г с элюированием градиентом от 0 до 5% MeOH в DCM с получением масла, которое подвергали кристаллизации из DIPE (10 мл) с получением белого твердого вещества (0,23 г, выход 83,2%). Очистку проводили с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD 30×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , iPrOH с 0,2% iPrNH₂) с получением двух фракций. Обе фракции переносили в пробирки и высушивали в вакуумной печи (45°C, 16 ч.) с получением таким образом аморфных твердых веществ соед. № 24a (0,11 г, выход 39,7%) и соед. № 24b (0,11 г, выход 38,3%).

Соединения 25a и 25b.



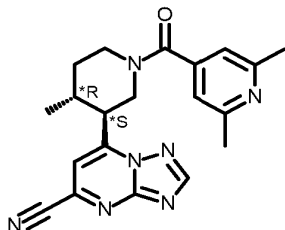
Соед. № 25a



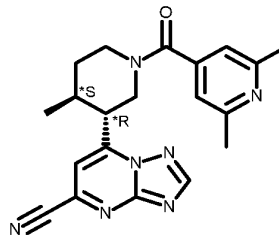
Соед. № 25b

Бензотиазол-6-карбоновую кислоту (142 мг, 0,792 ммоль) перемешивали в DCM (15 мл), добавляли DIPEA (0,82 мл, 4,8 ммоль) и HBTU (300 мг, 0,792 ммоль). Перемешивание продолжали в течение 0,5 ч при к.т. К раствору добавляли промежуточное соединение 25 (250 мг, 0,792 ммоль) и перемешивание продолжали в течение 2 ч при к.т. Добавляли раствор NaOH (1 н., 1 мл) и перемешивали в течение 5 мин. Продукт фильтровали через фильтр Extrelute и выпаривали фильтрат. Продукт очищали на силикагеле, элюент: DCM→4% MeOH в DCM. Очищенные фракции выпаривали с получением смеси соединений 25a и 25b (340 мг). Полученное очищали с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD 20×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , EtOH+0,4 iPrNH₂) с получением двух продуктов, оба из которых кристаллизовали из Et₂O и получали соед. № 25a (121 мг, 35%) и соед. № 25b (128 мг, 37%).

Соединения 26a и 26b.



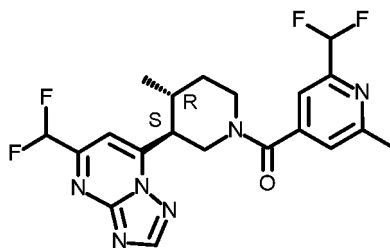
Соед. № 26a



Соед. № 26b

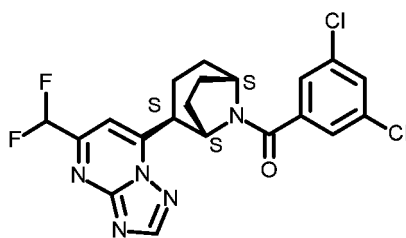
2,6-Диметилизоникотиновую кислоту (154,845 мг, 1,0 ммоль) перемешивали в DCM (10 мл). Добавляли DIPEA (0,53 мл, 3,1 ммоль) и HBTU (427 мг, 1,1 ммоль), перемешивание продолжали в течение 0,5 ч при к.т. Промежуточное соединение 38 (273 мг, 1,1 ммоль) растворяли в DCM (5 мл) и данную смесь добавляли к раствору, причем перемешивание продолжали в течение 3,5 ч при комнатной температуре. Реакц. см. гасили водой, затем два слоя разделяли и водн. сл. повторно экстрагировали с помощью DCM. OL высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Продукт очищали на силикагеле, элюент: DCM/MeOH от 100/0 до 97/3 до 94/6, что обеспечило получение двух пар диастереомеров в виде смеси. Очистку проводили с помощью препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD 20×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , EtOH+0,4 iPrNH₂), в результате которой получили два транс-энантиомера. Очистку проводили с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge Prep C18 ODB - 5 мкм, 30×250 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN) с получением соединения 26a (26 мг, выход 6,761%) и 26b (20 мг, выход 5,201%).

Соединение 321.



Промежуточное соединение 9b (·2HCl, 1,2 г, 3,527 ммоль), 2-(дифторметил)-6-метил-4-пиридин-карбоновую кислоту (660 мг, 3,527 ммоль), EDCI (1,352 г, 7,053 ммоль) и DIPEA (1,823 г, 14,107 ммоль) в DCM (71,4 мл) перемешивали при к.т. в течение 4 ч. Реакц. см. промывали с помощью 1 н. NaOH, OL высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали. Продукт очищали на силикагеле, элюент MeOH/DCM от 0/100 до 3/97. Очищенные фракции выпаривали и кристаллизовали из DIPE. Кристаллы отфильтровывали и высушивали с получением соединения 321 (920 мг, 60%).

Соединение 333.

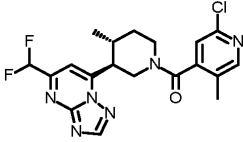
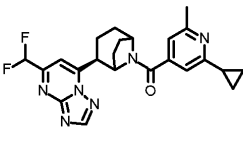
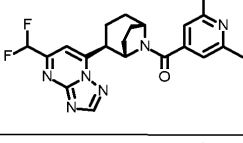
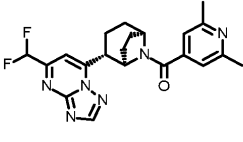
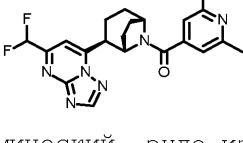
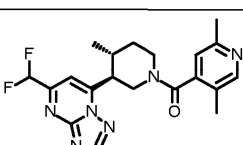
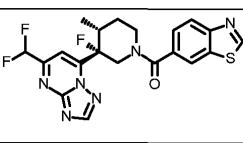
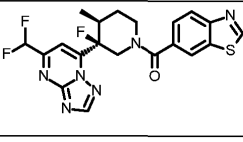
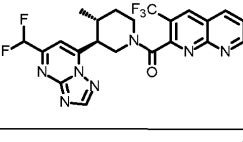
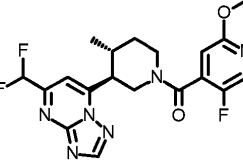


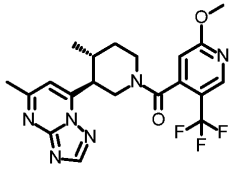
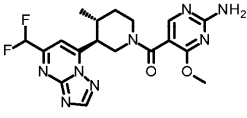
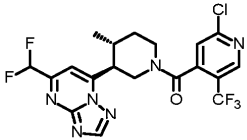
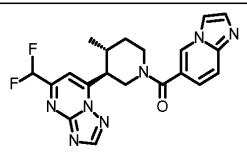
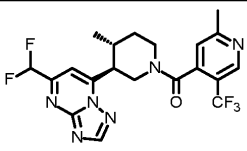
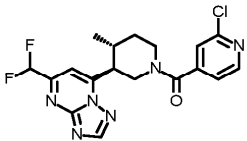
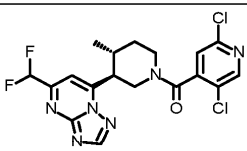
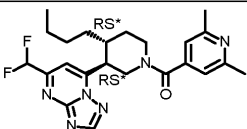
К перемешанному раствору промежуточного соединения 25a (100 мг, 0,317 ммоль) в сухом ACN (5 мл) добавляли 3,5-дихлорбензойную кислоту (72,593 мг, 0,38 ммоль). Добавляли TEA (0,22 мл, 1,58 ммоль) с последующим добавлением 1-пропанфосфонового ангидрида ([68957-94-8], 0,28 мл, 0,48 ммоль) и смесь перемешивали при к.т. в течение 3 ч с получением белого осадка в коричневом растворе. Растворитель удаляли in vacuo и неочищенное вещество разделяли между DCM (10 мл) и насыщенным водным раствором NaHCO_3 (10 мл). OL промывали насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (1×15 мл), высушивали (MgSO_4), фильтровали, удаляли растворитель in vacuo и выпаривали совместно с толуолом (1×20 мл) с получением белого осадка в коричневом растворе, который высушивали в течение ночи с получением коричневых и белых кристаллов. В результате перекристаллизации из Et₂O получали грязно-белые кристаллы, которые высушивали в печи в течение ночи в вакуумной печи при 40°C с получением соединения 333 (88 мг, 61%) в виде грязно-белых кристаллов.

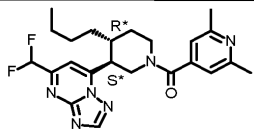
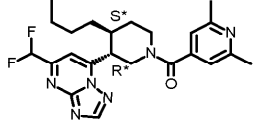
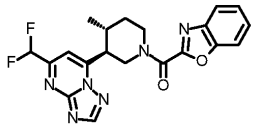
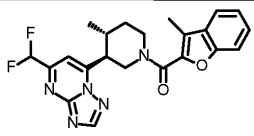
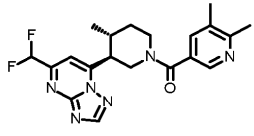
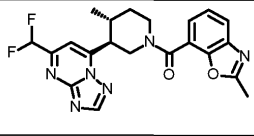
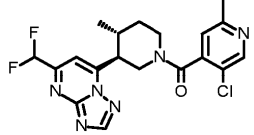
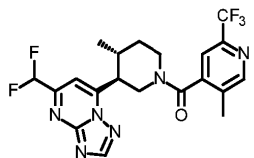
В табл. 1 ниже перечислены дополнительные соединения, которые получали по аналогии с выше-приведенными примерами. В случае, если не указана солевая форма, соединение получали в виде свободного основания. "№ соед." означает номер соединения. Применяемые в синтезе соединений реагенты были либо коммерчески доступными, либо же были получены посредством процедур, известных специа-

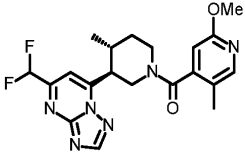
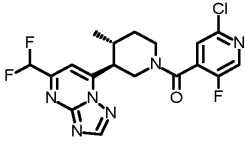
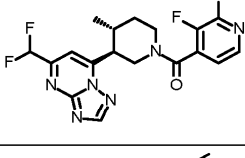
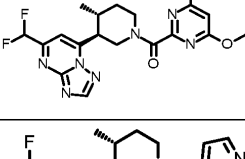
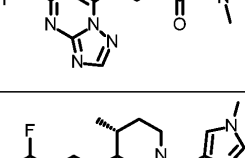
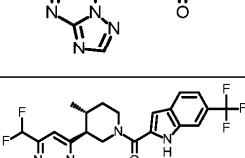
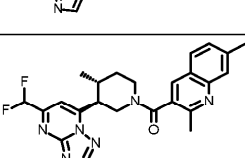
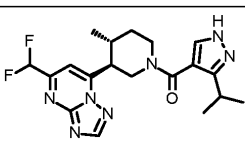
листу в данной области техники. В колонке с реагентом указаны соединения, полученные по аналогии с соединением 321 (примечание: сочетание с помощью EDCI); указаны соединения, полученные по аналогии с соединением 333 (примечание: ангидрид фосфоновой кислоты).

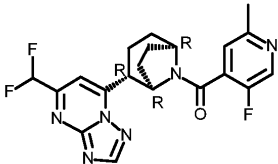
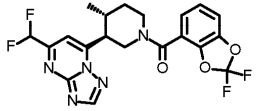
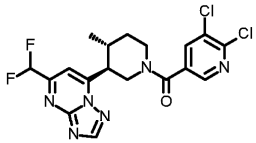
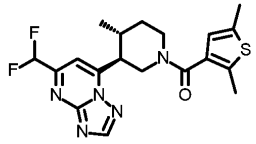
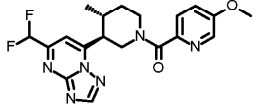
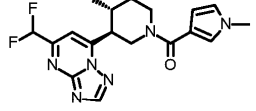
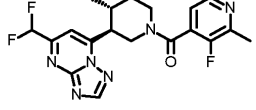
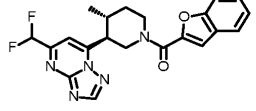
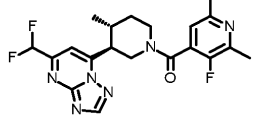
Таблица 1

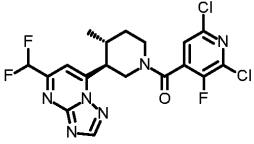
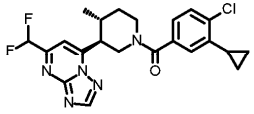
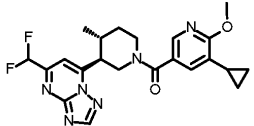
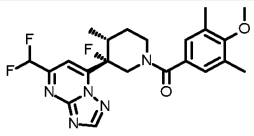
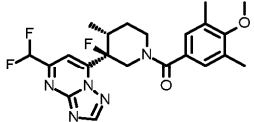
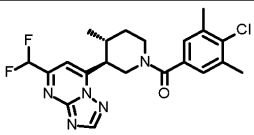
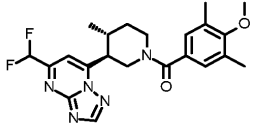
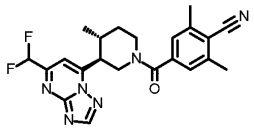
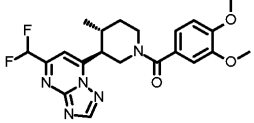
№ соед.	Структура	Получен из	Выход (%)
27		I-9b	78
28		I-25	35
29		I-25	39
30		I-25	38
31	 Рацемический, эндо-изомер	I-25	26
32		I-9b	55
33		I-19	44
34		I-19	41
35		I-9b	68
36		I-9b	73

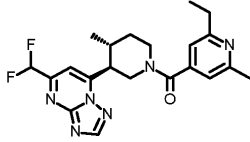
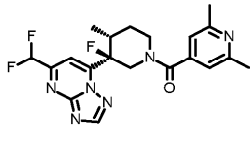
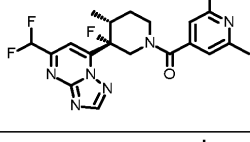
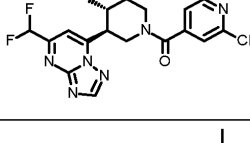
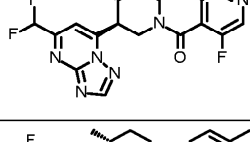
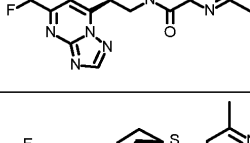
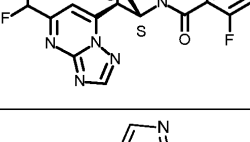
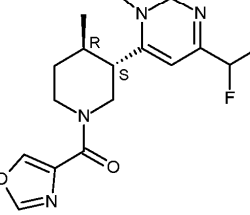
37		I-12a	52
38		I-9b	41
39		I-9b	21
40		I-9b	78
41		I-9b	38
42		I-9b	60
43		I-9b	55
44	 Смесь транс-изомеров	I-28	29

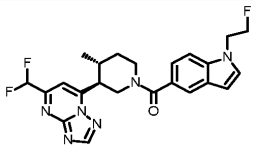
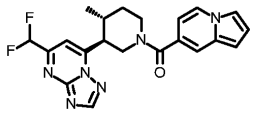
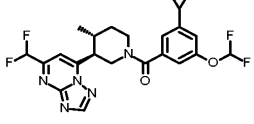
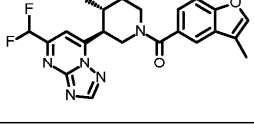
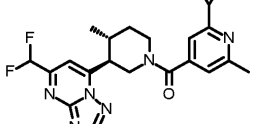
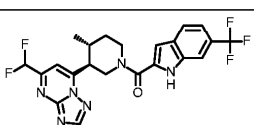
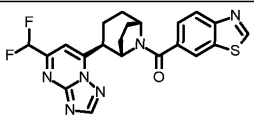
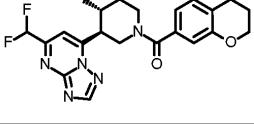
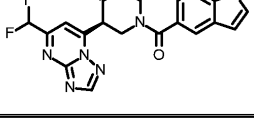
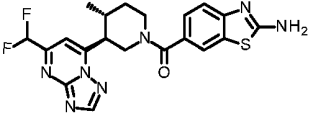
45	 Чистый транс-энантиомер	I-28	12
46	 Чистый транс-энантиомер	I-28	12
47		I-9b	44
48		I-9b	77
49		I-9b	62
50		I-9b	68
51		I-9b	31
52		I-9b	6

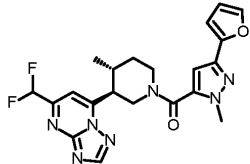
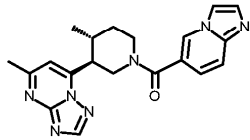
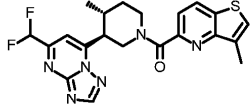
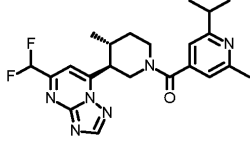
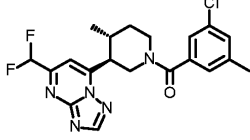
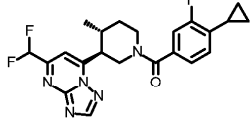
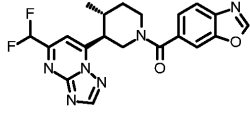
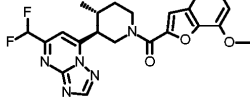
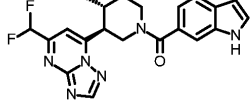
53		I-9b	17
54		I-9b	53
55		I-9b	63
56		I-9b	51
57		I-9b	61
58		I-9b	75
59		I-9b	72
60		I-9b	64
61		I-9b	73

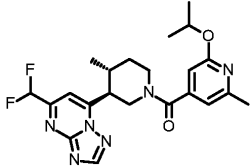
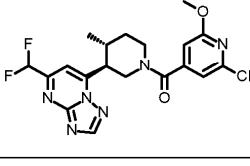
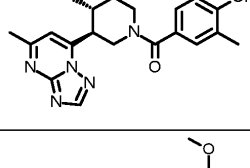
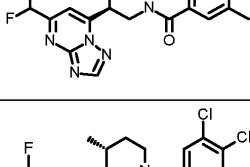
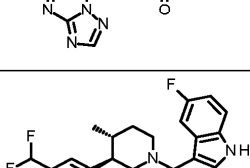
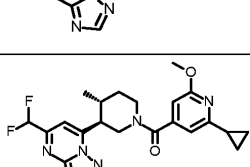
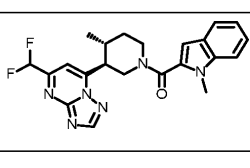
62		I-25	42
63		I-9b	40
64		I-9b	60
65		I-9b	49
66		I-9b	57
67		I-9b	63
68		I-9b	48
69		I-9b	78
70		I-9b	58

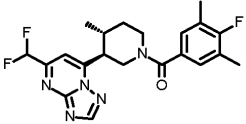
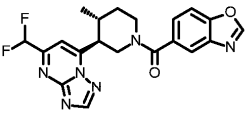
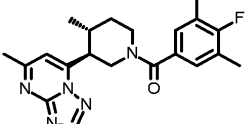
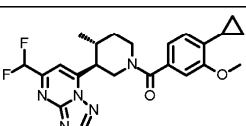
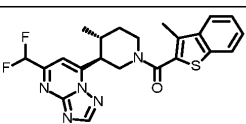
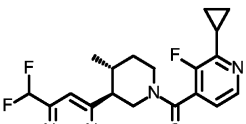
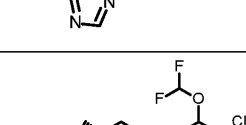
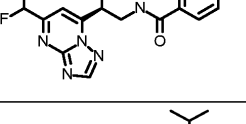
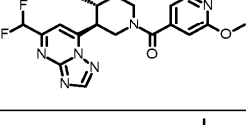
71		I-9b	73
72		I-9b	38
73		I-9b	39
74		I-19	30
75		I-19	32
76		I-9b	36
77		I-9b	42
78		I-9b	58
79		I-9b	74

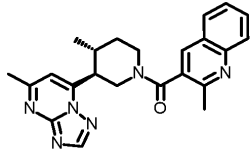
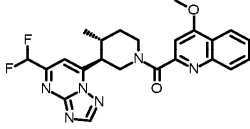
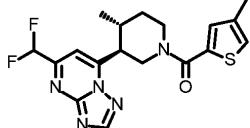
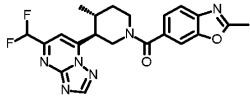
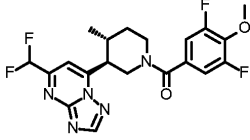
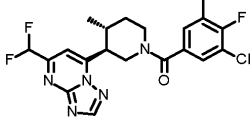
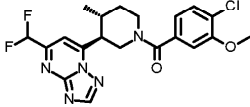
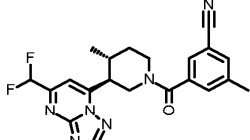
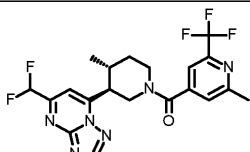
80		I-9b	54
81		I-19	30
82		I-19	31
83		I-9b	81
84		I-9b	30
85		I-9b	22
86		I-25	41
87		I-9b	65

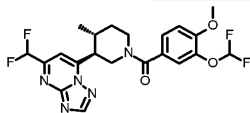
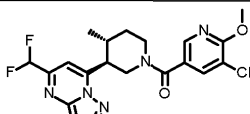
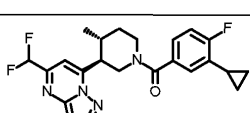
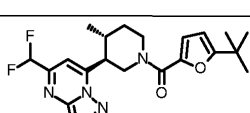
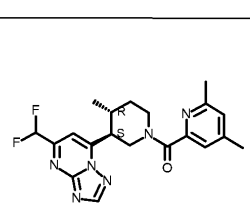
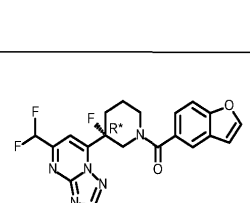
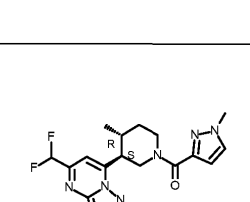
89		I-9b	46
90		I-9b [1533853-53-0]	73
91		I-9b	33
92		I-9b [501892-99-5]	61
93		I-9b	15
94		I-9b [327-20-8]	25
95		I-25	36
96		I-9b [103203-84-5]	83
97		I-9b [90721-27-0]	
		I-9b [332898-48-3]	27

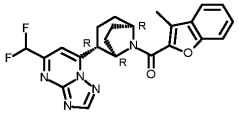
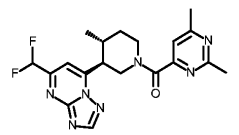
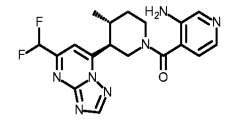
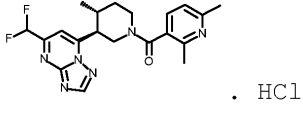
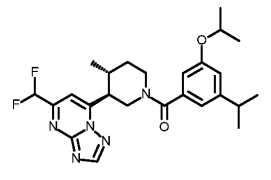
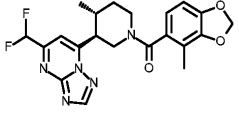
98		I-9b [859851-00-6]	60
99		I-9b [139022-25-6]	24
100		I-9b [1372924-05-4]	53
101		I-9b [1011264-07-5]	28
102		I-9b [1427392-05-9]	61
103		I-9b [1247451-23-5]	48
104		I-9b [154235-77-5]	21
105		I-9b [4790-79-8]	60
106		I-9b [1670-82-2]	76

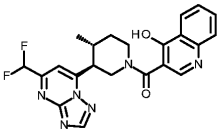
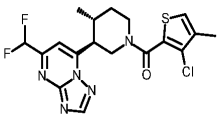
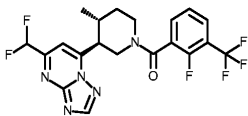
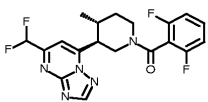
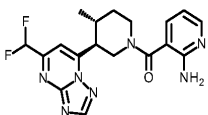
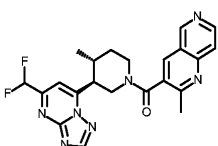
107		I-9b [1011264-06-4]	47
108		I-9b [15855-06-8]	49
109		I-9b [90649-78-8]	21
110		I-9b [1803602-19-8]	51
111		I-9b [51-44-5]	9
112		I-9b [23077-43-2]	41
113		I-9b [1256820-02-6]	42
114		I-9b [16136-58-6]	64

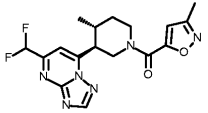
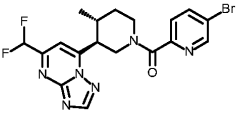
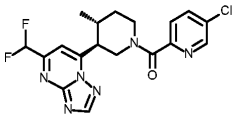
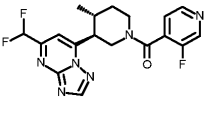
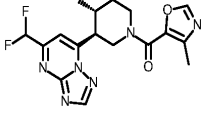
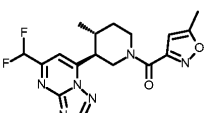
115		I-9b [120512-59-6]	64
116		I-9b [151112-41-1]	73
117		I-12a [120512-59-6]	27
118		I-9b [1248462-73-8]	46
119		I-9b [3133-78-6]	67
120		I-9b	45
121		I-9b [1427355-37-0]	65
122		I-9b [1256790-25-6]	36
123		I-9b [6613-44-1]	38

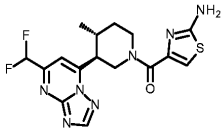
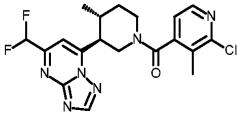
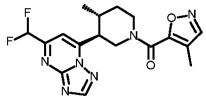
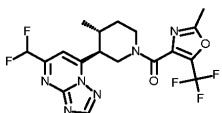
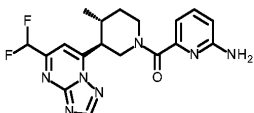
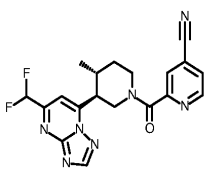
124		I-9b [470702-35-3]	60
125		I-9b [15733-83-2]	74
126		I-9b [14282-78-1]	35
127		I-9b [13452-14-7]	29
128		I-9b [319-60-8]	63
129		I-9b [1427392-05-9]	44
130		I-9b [85740-98-3]	63
131		I-9b [78621-81-5]	46
132		I-9b [1211590-99-6]	45

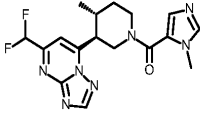
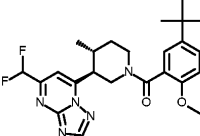
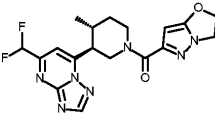
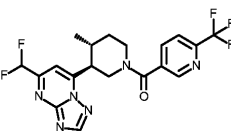
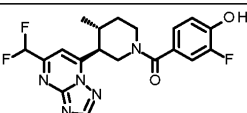
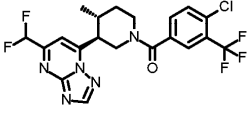
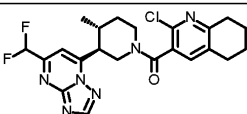
133		I-9b [162401-65-2]	61
134		I-9b [884494-85-3]	59
135		I-9b	53
136		I-9b [56311-39-8]	53
137		I-9b 4, 6- Диметилпиридин- 2-карбоновая кислота [18088-10-3]	34
138		I-19 Бензофуран-5- карбоновая кислота [90721-27-0]	25 (сочетание 63%, 40% SFC)
139		I-9b 1-Метил-1Н- пиразол-3- карбоновая кислота [25016-20-0]	67

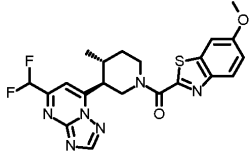
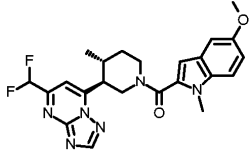
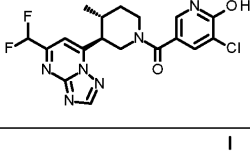
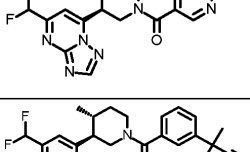
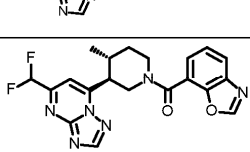
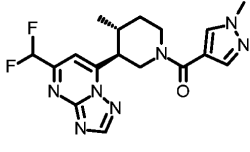
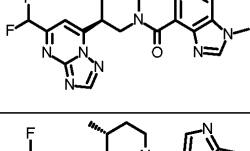
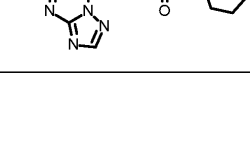
140		I-25 3- Метилбензофуран- 2-карбонилхлорид [2256-86-2]	36
141		I-9b 2, 6- Диметилпиримидин -4-карбоновая кислота [54198-74-2]	14
142		I-9b 3-Аминопиридин- 4-карбоновая кислота [7529-20-6]	59
143		I-9b 2, 6- Диметилникотинов ая кислота [5860-71-9]	44
144		I-9b 5- (трет- Бутил) изоксазол- 3-карбоновая кислота [90607-21-9]	52
145		I-9b 4-Метил-2Н-1, 3- бензодиоксол-5- карбоновая кислота [162506-58-3]	60

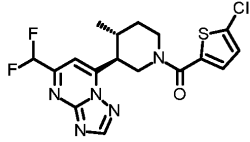
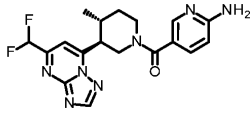
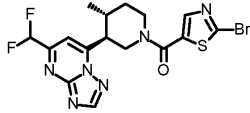
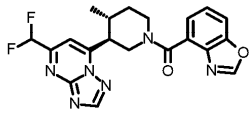
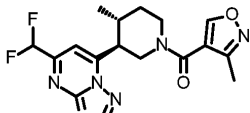
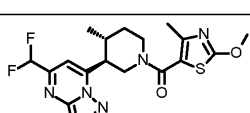
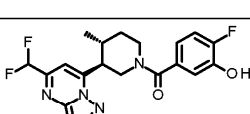
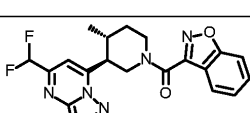
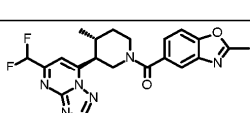
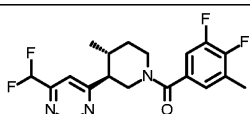
146		I-9b 4- Гидроксихинолин- 3-карбоновая кислота [34785-11-0]	19
147		I-9b 3-Хлор-4- метилтиофен-2- карбоновая кислота [229342-86-3]	52
148		I-9b 2-Фтор-3- (трифторметил) бе нзойная кислота [115029-22-6]	63
149		I-9b 2, 6- Дифторбензойная кислота [385-00-2]	54
150		I-9b 2- Аминоникотиновая кислота [5345-47-1]	67
151		I-9b 2-Метил-1, 6- нафтиридин-3- карбоновая кислота [387350-63-2]	75

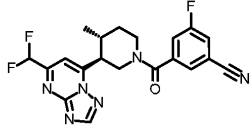
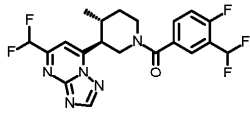
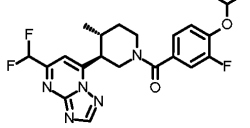
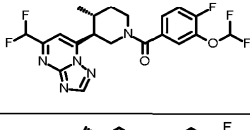
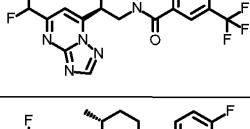
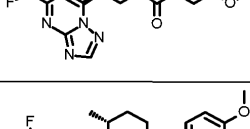
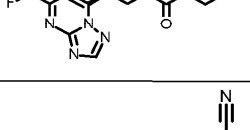
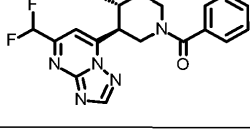
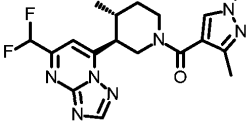
152		I-9b 3- Метилизоксазол- 5-карбоновая кислота [4857-42-5]	63
153		I-9b 5-Бромпиридин-2- карбоновая кислота [30766-11-1]	45
154		I-9b 5-Хлорпиридин-2- карбоновая кислота [36070-80-1]	65
155		I-9b 3-Фтор-4- пиридинкарбонова я кислота [131307-35-2]	60
156		I 9b 4-Метилксазол- 5-карбоновая кислота [2510-32-9]	65
157		I-9b 5- Метилизоксазол- 3-карбоновая кислота [3405-77-4]	65

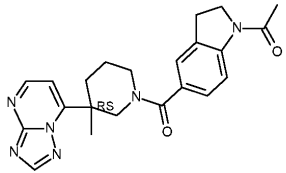
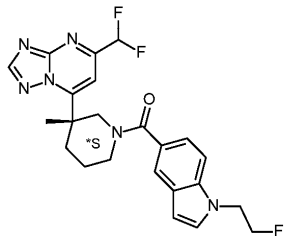
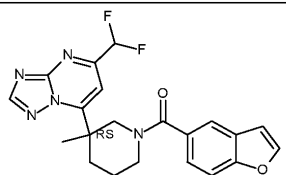
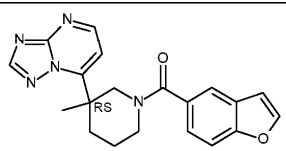
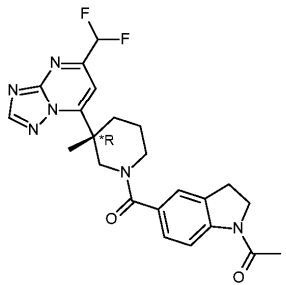
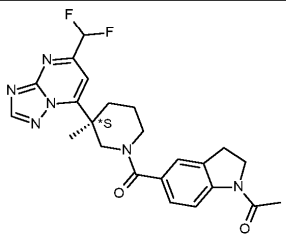
158		I-9b 2-Аминотиазол-4- карбоновая кислота [112539-08-9]	68
159		I-9b 2-Хлор-3- метилизоникотино вая кислота [133928-73-1]	54
160		I-9b 4- Метилизоксазол- 5-карбоновая кислота [261350-46-3]	52
161		I-9b 2-Метил-5- (трифторметил) ок сазол-4- карбоновая кислота [18955-88-9]	68
162		I-9b 6-Амиопиридин- 2-карбоновая кислота [23628-31-1]	53
163		I-9b 4-Цианопиридин- 2-карбоновая кислота [640296-19-1]	67

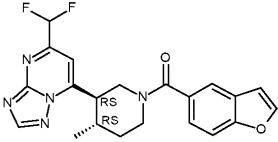
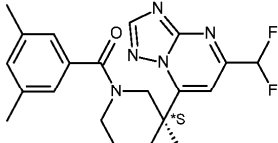
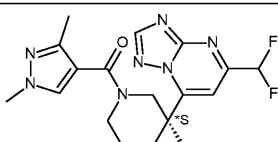
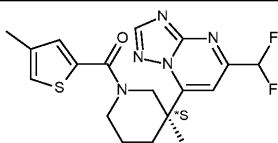
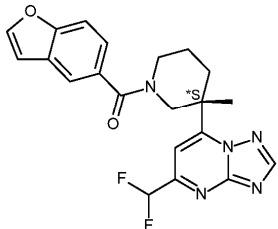
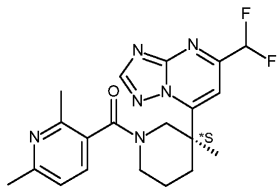
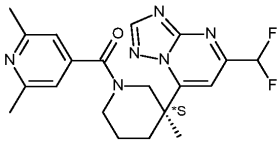
164		I-9b 1-Метил-1Н- имидазол-5- карбоновая кислота [41806-40-0]	69
165		I-9b 5-трет-Бутил-2- метоксибензойная кислота [73469-54-2]	61
166		I-9b 2Н, 3Н- Пиразоло [3, 2- В] [1, 3] оксазол- 6-карбоновая кислота [1239722-75-8]	62
167		I-9b 6- (Трифторметил) ни котиновая кислота [231291-22-8]	48
168		I-9b [350-29-8]	25
169		I-9b [1737-36-6]	67
170		I-9b [99058-34-1]	69

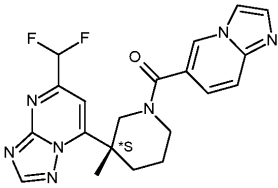
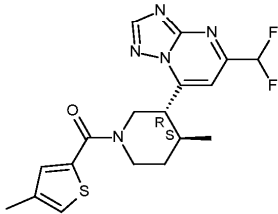
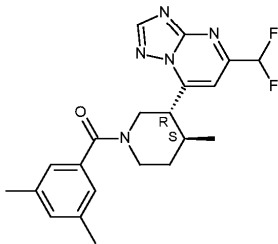
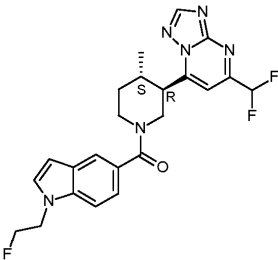
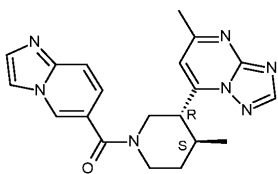
171		I-9b [946-13-4]	40
172		I-9b [59908-54-2]	58
173		I-9b [54127-63-8]	31
174		I-9b [180283-66-3]	64
175		I-9b [872091-00-4]	59
176		I-9b [208772-24-1]	59
177		I-9b [5952-92-1]	75
178		I-9b [1187732-69-9]	66
179		I-9b [55365-04-3]	68

180		I-9b [24065-33-6]	66
181		I-9b [3167-49-5]	63
182		I-9b [54045-76-0]	65
183		I-9b [208772-23-0]	48
184		I-9b [17153-20-7]	67
185		I-9b [126909-38-4]	56
186		I-9b [51446-31-2]	24
187		I-9b [28691-47-6]	58
188		I-9b [90322-32-0]	58
189		I-9b [1017778-60-7]	26

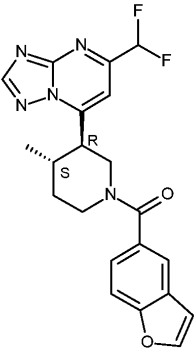
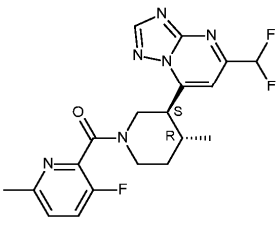
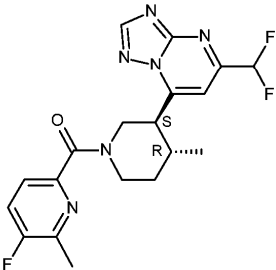
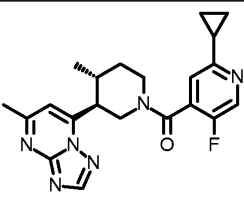
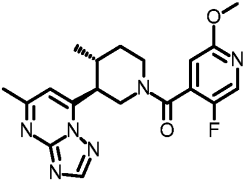
190		I-9b [327056-74-6]	62
191		I-9b	60
192		I-9b [886496-49-7]	21
193		I-9b [1214383-15-9]	57
194		I-9b [67515-55-3]	25
195		I-9b [82846-18-2]	76
196		I-9b [26218-80-4]	45
197		I-9b [1877-72-1]	22
198	 ·HCl	I-9b [113100-61-1]	49

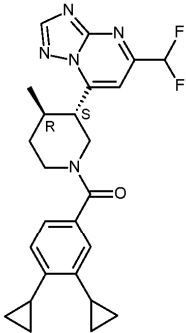
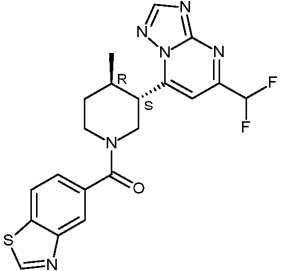
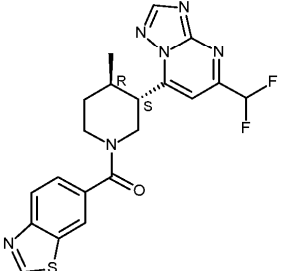
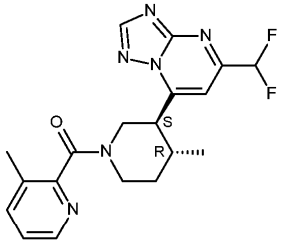
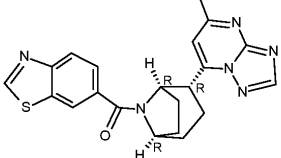
199		I-42	8,7
200		I-30	54
201		I-30	30
202		I-42	31
203		I-30a	87
204		I-30b	89

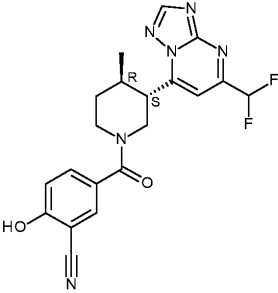
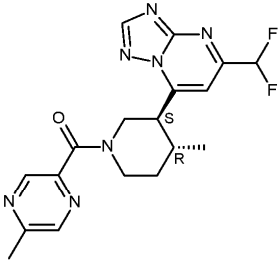
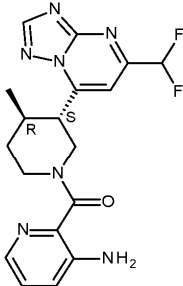
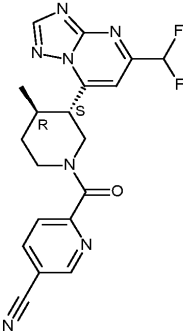
205		I-12	22
206		I-30b	60
207		I-30b	40
208		I-30b	75
209		I-30b	57
210		I-30b	65
211		I-30b	25

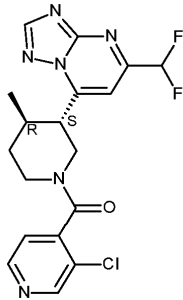
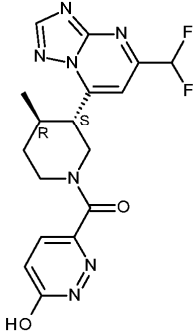
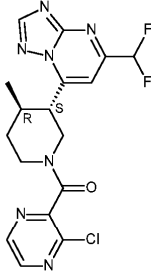
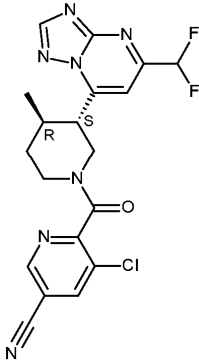
212		I-12	14
213		I-9a	61
214		I-9a	55
215		I-9a	54
216		I-9a	29

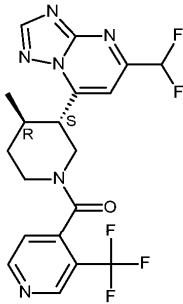
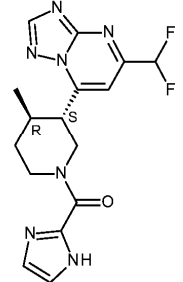
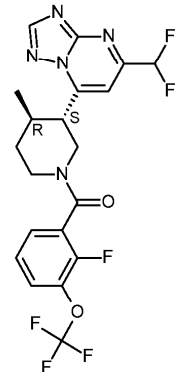
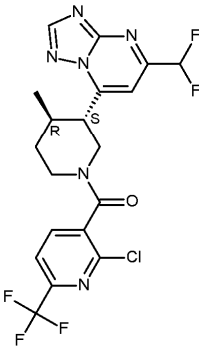
217		I-9a	25
218		I-9a	26
219		I-28	6
220	 Свободное основание или .HCl	I-9a	42

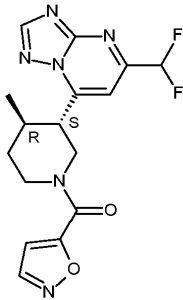
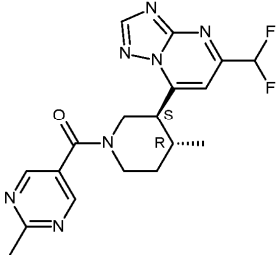
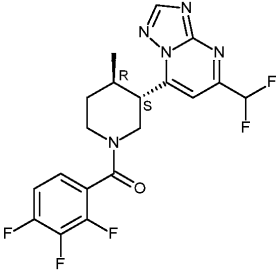
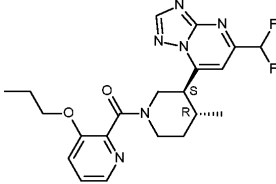
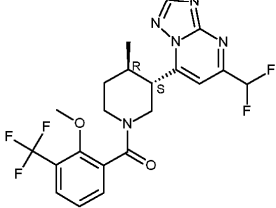
221		I-9a	58
222		I-9b	24
223	 .1, 30 HCl . H₂O	I-9b	37
224		I-12a	55
225		I-12a	58

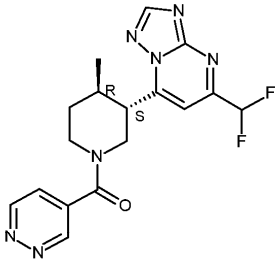
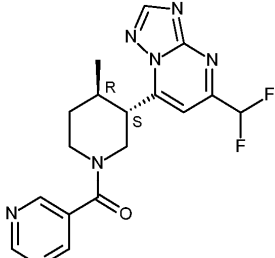
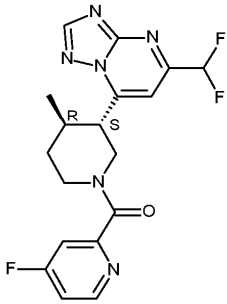
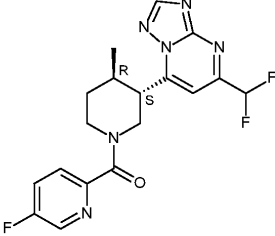
226		I-9b	14
227		I-9b	49
228		I-9b	50
229		I-9b	83
230		I-25	32

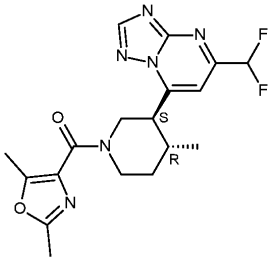
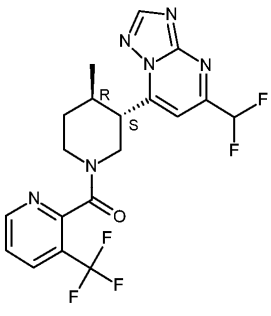
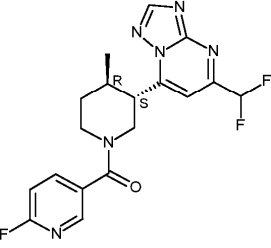
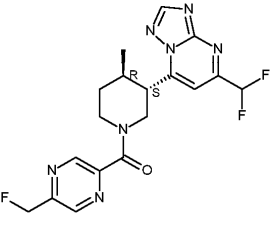
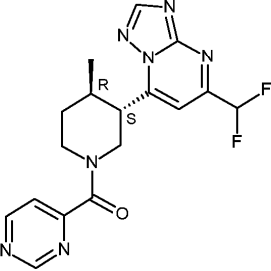
231		I-9b	29
232		I-9b	65
233		I-9b	57
234		I-9b	63

235		I-9b	62
236		I-9b	2
237		I-9b	54
238		I-9b	49

239		I-9b	45
240		I-9b	59
241		I-9b	66
242		I-9b	67

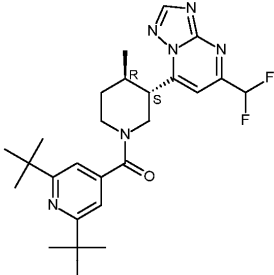
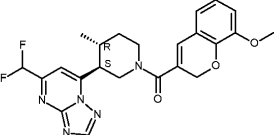
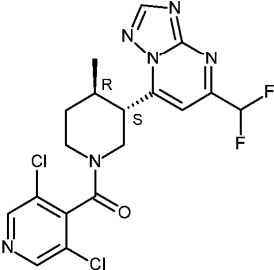
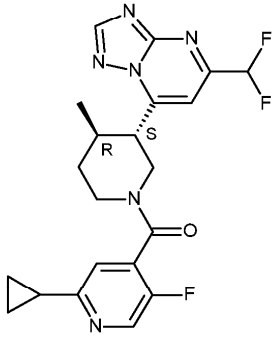
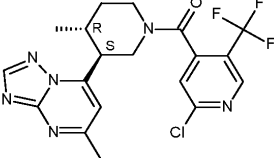
243		I-9b	44
244		I-9b	53
245		I-9b	62
246		I-9b	58
247		I-9b	53

248		I-9b	63
249		I-9b	53
250		I-9b	66
251		I-9b	70

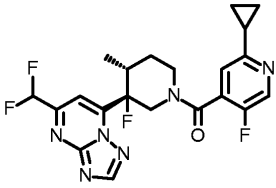
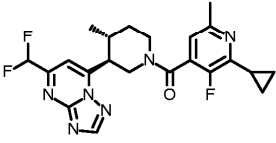
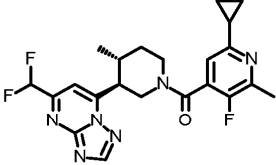
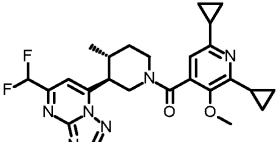
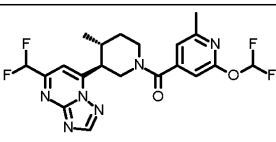
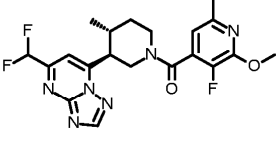
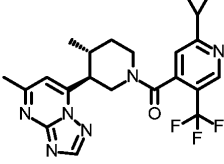
252		I-9b	62
253		I-9b	62
254		I-9b	50
255		I-9b	64
256		I-9b	63

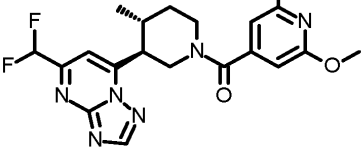
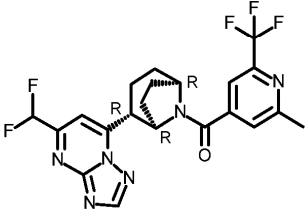
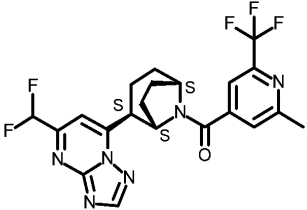
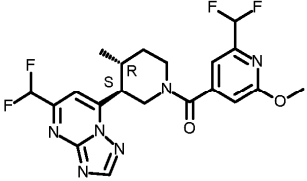
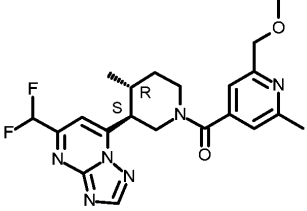
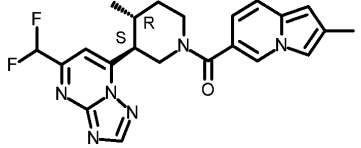
257		I-9b	59
258		I-9b	53
259		I-9b	63
260		I-9b	40
261		I-9b	64

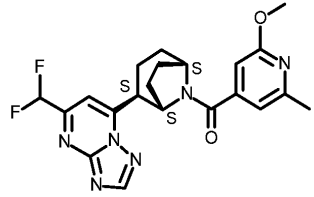
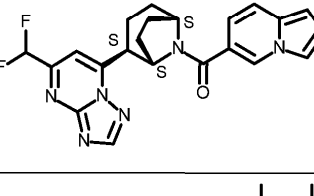
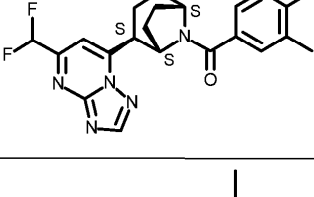
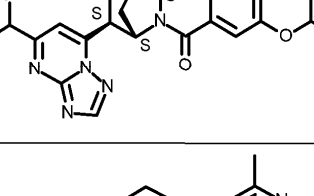
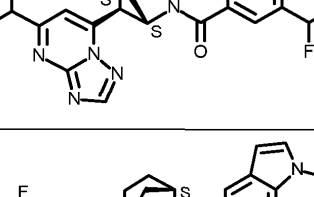
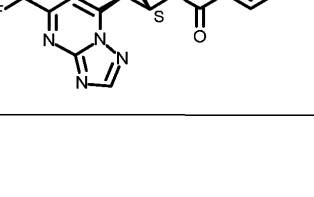
262		I-9b	68
263		I-9b	27
264		I-9b	58
265		I-9b	62

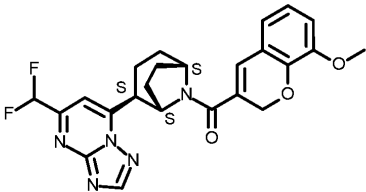
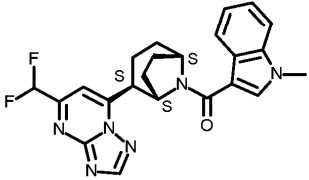
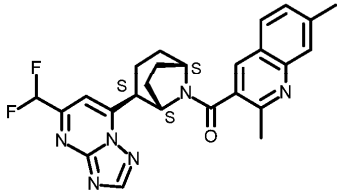
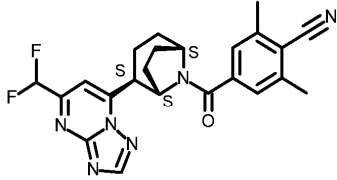
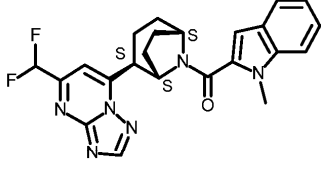
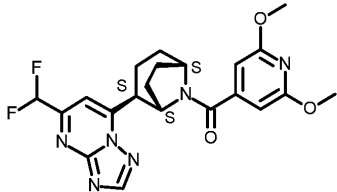
266		I-9b	72
267		I-9b	57
268		I-9b	61
269		I-9b	61
270		I-9b	45

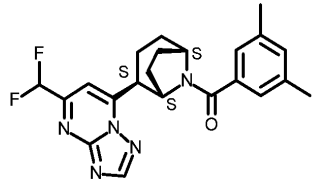
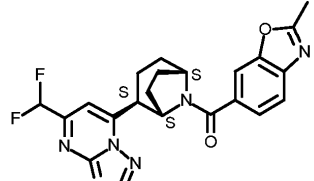
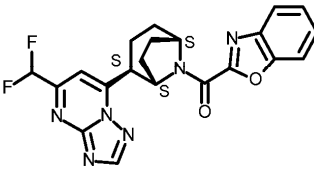
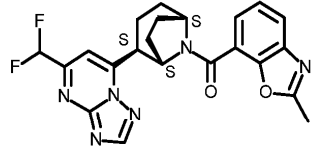
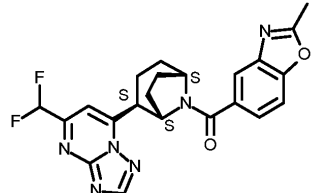
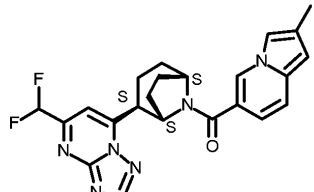
271		I-9b	32
272		I-9b	30
273		I-25	37
274		I-25	35
275		I-12a	31
276		I-9b	3

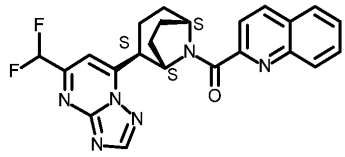
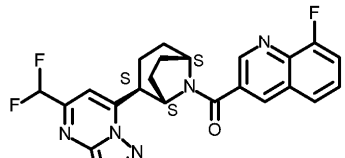
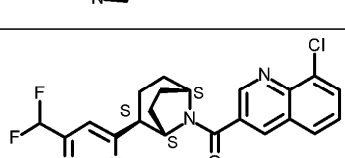
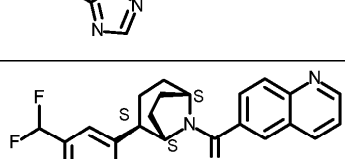
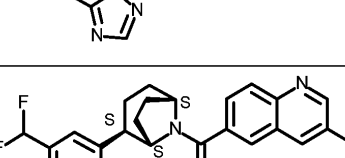
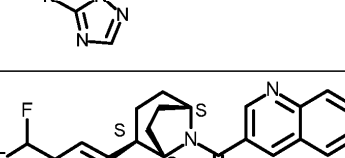
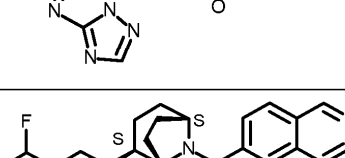
277		I-19a	71
278		I-9b	14
279		I-9b	11
280		I-9b	3
281		I-9b	30
282		I-9b	24
283		I-12a	48

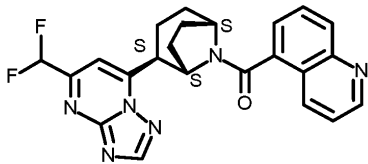
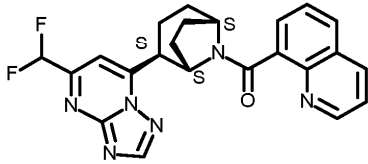
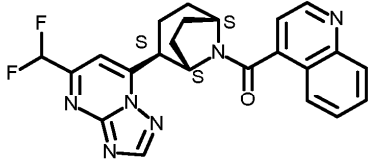
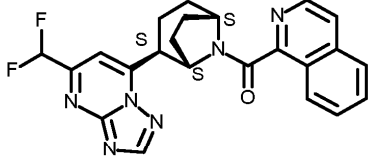
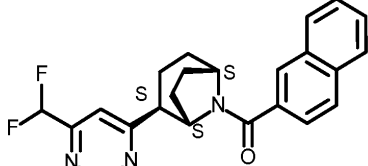
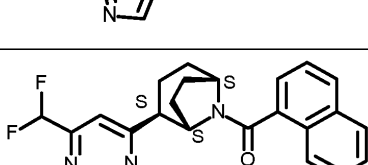
284		I-9b	62
285		I-25	7, 7
286		I-25	9, 7
287		I-9b	62
288		I-9b	26
289		I-9b	53

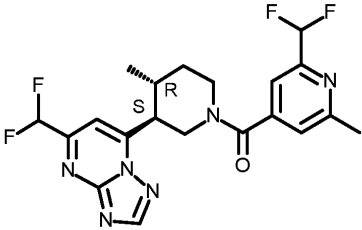
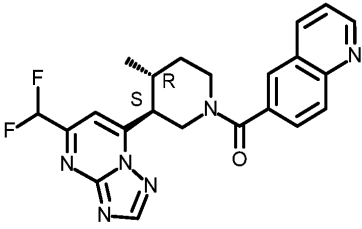
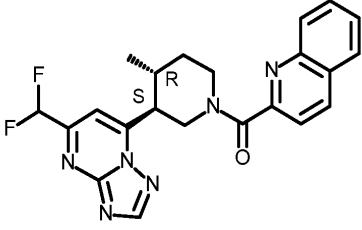
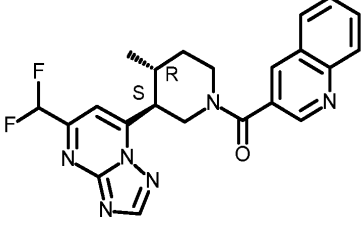
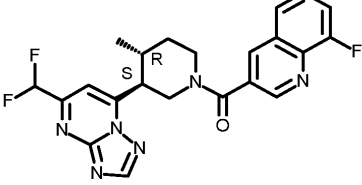
290		I-25a	40.
291		I-25a	65
292		I-25a	59
293		I-25a	65
294		I-25a	60
295		I-25a	94

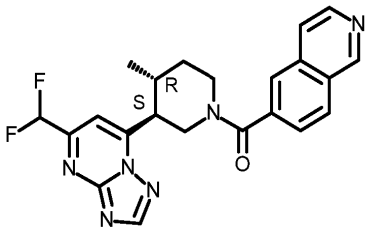
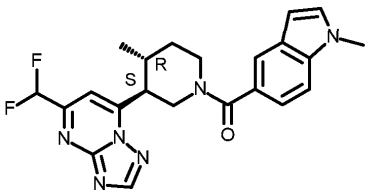
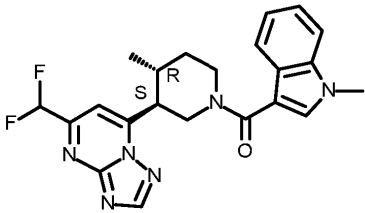
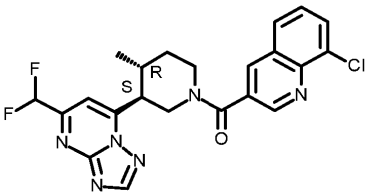
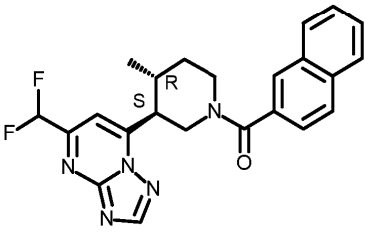
296		I-25a	39
297		I-25a	61
298		I-25a	56
299		I-25a	54
300		I-25a	22
301		I-25a	60

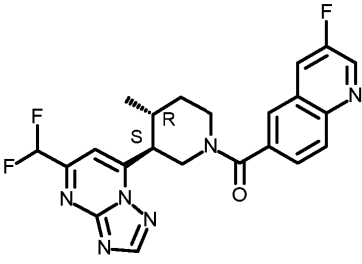
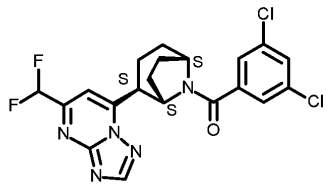
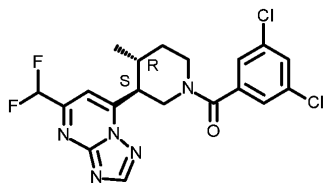
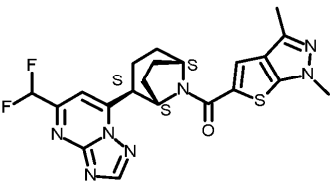
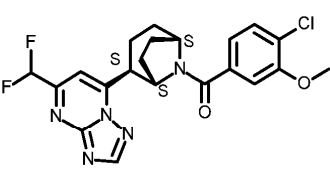
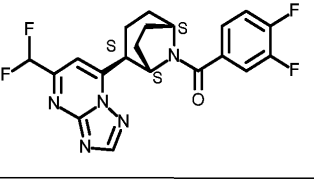
302		I-25a	61
303		I-25a	41
304		I-25a	56
305		I-25a	64
306		I-25a	68
307		I-25a	55

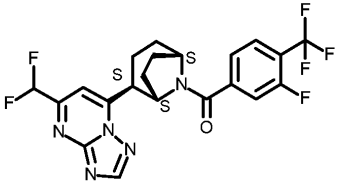
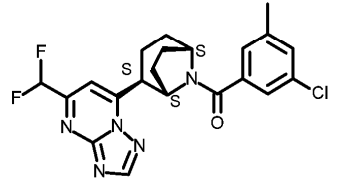
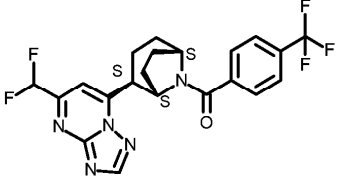
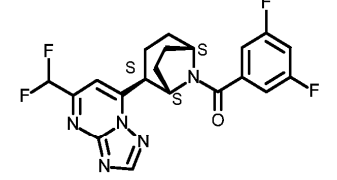
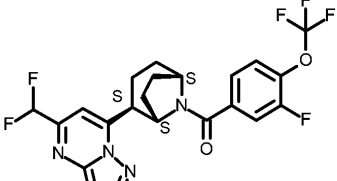
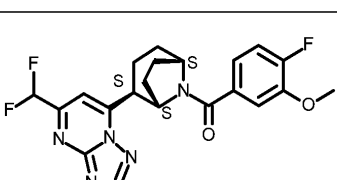
308		I-25a	48
309		I-25a	65
310		I-25a	52
311		I-25a	62
312		I-25a	63
313		I-25a	63
314		I-25a	64

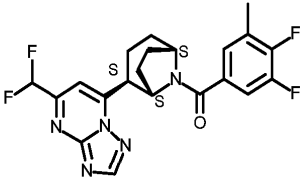
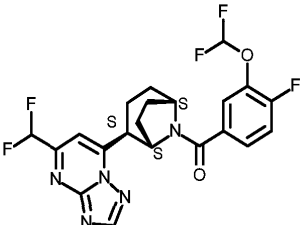
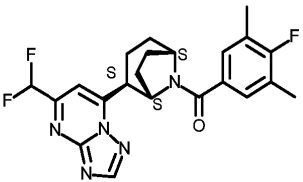
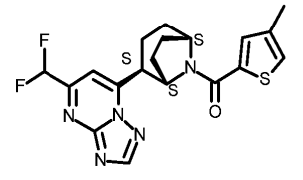
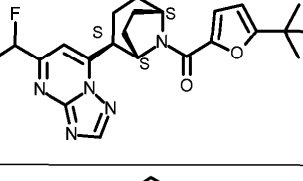
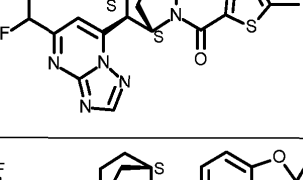
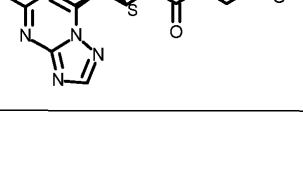
315		I-25a	63
316		I-25a	100
317		I-25a	61
318		I-25a	86
319		I-25a	57
320		I-25a	50

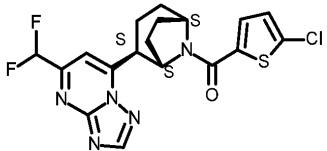
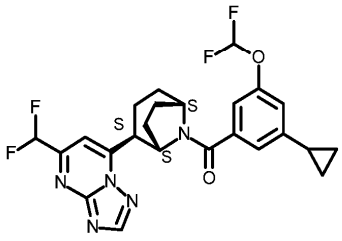
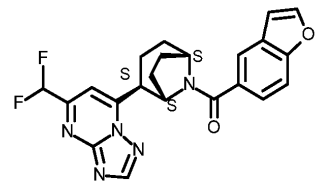
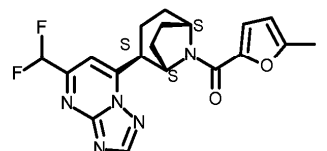
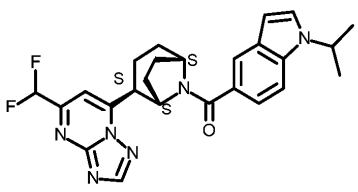
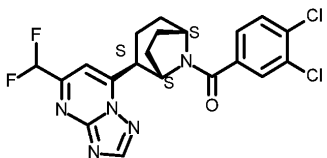
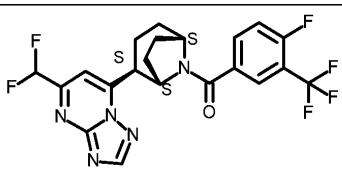
321		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	60
322		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	69
323		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	59
324		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	79
325		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	62

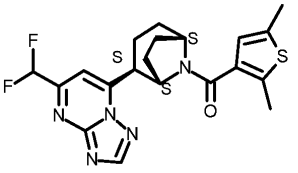
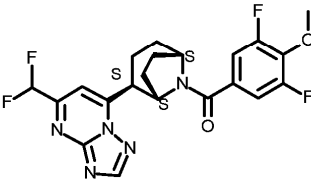
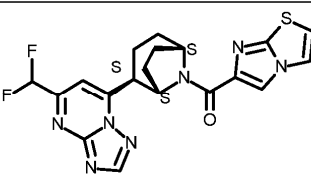
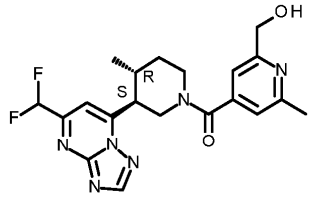
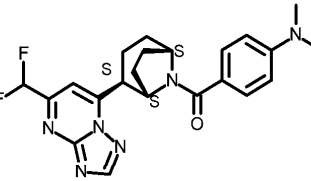
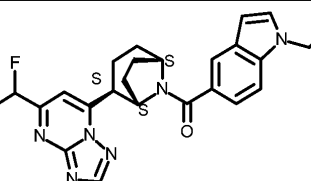
326		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	66
327		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	73
328		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	56
329		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	71
331		I-9b (Примечание: сочетание с помощью EDCI)	66

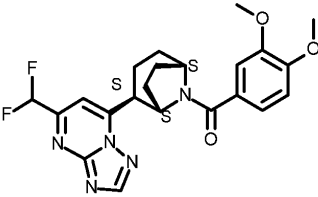
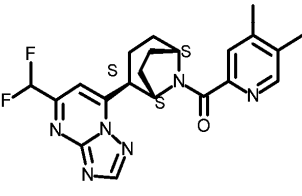
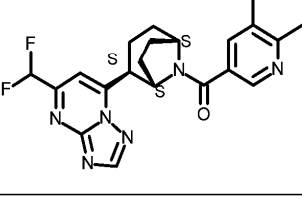
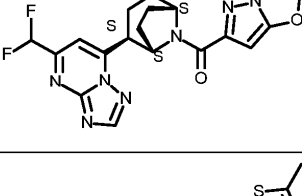
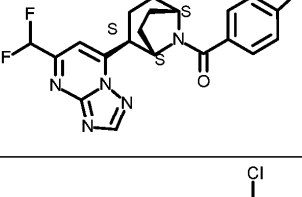
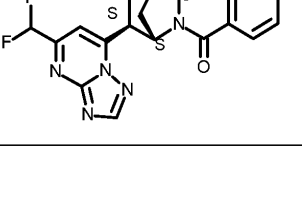
332		I-9b	32
333		I-25a (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	61
334		I-9b (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	66
335		I-25a	71
336		I-25a (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	52
337		I-25a	62

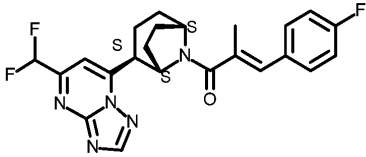
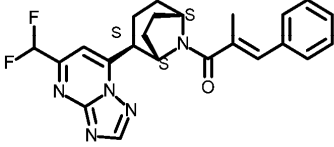
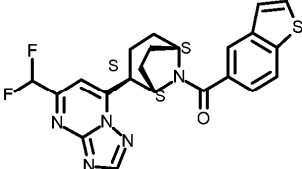
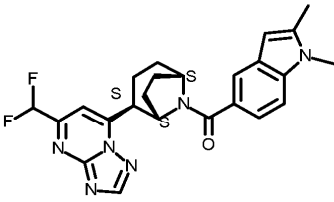
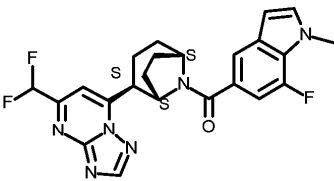
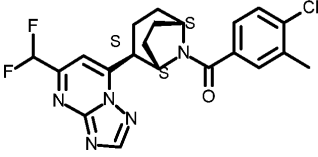
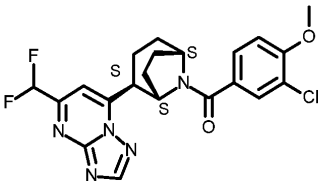
338		I-25a	33
339		I-25a	69
340		I-25a	38
341		I-25a	72
342		I-25a	42
343		I-25a (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	58

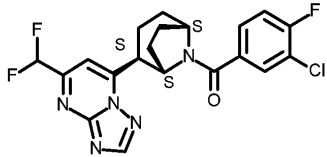
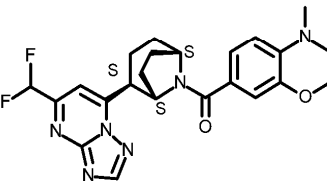
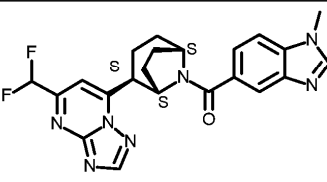
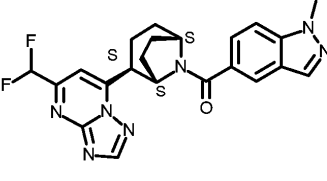
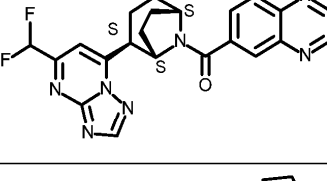
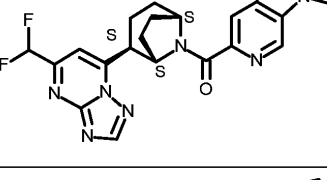
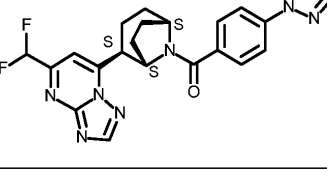
344		I-25a	64
345		I-25a (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	42
346		I-25a	41
347		I-25a	52
348		I-25a	51
349		I-25	46
350		I-25a	55

351		I-25a	
352		I-25a	67
353		I-25a	66
354		I-25a	59
355		I-25a (Примечание: ангидрид фосфоновой кислоты)	34
356		I-25a	78
357		I-25a	65

358		I-25a	17
359		I-25a	58
360		I-25a	43
361		I-9b	15
362		I-25a	47
363		I-25a	49

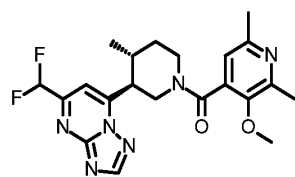
364		I-25a	68
365		I-25a	13
366		I-25a	59
367		I-25a	68
368		I-25a	50
369		I-25a	26

370		I-25a	60
371		I-25a	34
372		I-25a	37
373		I-25a	63
374		I-25a	53
375		I-25a	71
376		I-25a	57

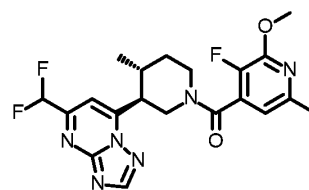
377		I-25	41
378		I-25	58
379		I-25a	63
380		I-25a	68
381		I-25a	59
382		I-25a	54
383		I-25a	55

384		I-25a	22
385		I-25a	72
403		I-25a	57,7
404		I-25a	67
405		I-25	68,7
406		I-25	71,5

Превращения и синтез конечных соединений с помощью других путей
Соединение 386 и соединение 282/387.

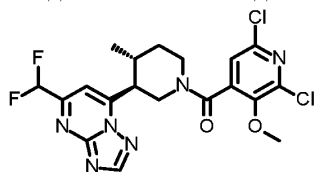


Соед. № 386

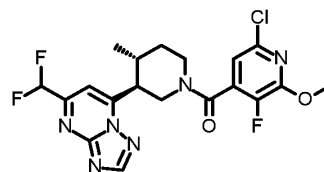


Соед. № 387/282

Стадия 1. Соединение 388 и соединение 389.



Соед. № 388



Соед. № 389

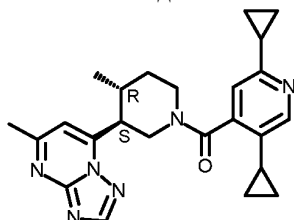
К раствору соединения 71 (654 мг, 1,42 ммоль) в MeOH (13 мл) добавляли NaOMe (10,5 мл, 56,7 ммоль, 30% в MeOH) и полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакц. см. гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl. Летучие вещества удаляли под вакуумом и оставшийся водный остаток разделяли с помощью DCM. Водный слой экстрагировали с помощью DCM (2×10 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали in vacuo с получением смеси соедине-

ний 388 и 389 в виде белой пены (656 мг), которую применяли как таковую на следующей стадии.

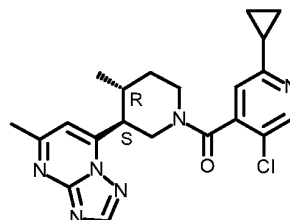
Стадия 2. Соединение 386 и соединение 282/387.

Смесь из предыдущей стадии растворяли в 1,4-диоксане (10 мл), полученный раствор помещали в пробирку для проведения реакций с обработкой микроволновым излучением и дегазировали в течение 5 мин. Затем добавляли K_2CO_3 (668 мг, 4,83 ммоль) с последующим добавлением триметилбороксина (0,789 мл, 2,76 ммоль, 3,5 М в THF) и $Pd(PPh_3)_4$ (159,5 мг, 0,14 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при 100°C в течение 2,5 ч под действием микроволнового излучения. Добавляли дополнительное количество триметилбороксина (0,394 мл, 1,38 ммоль, 3,5 М в THF) и реакционную смесь нагревали при 100°C под действием микроволнового излучения еще в течение часа. Выпаривали растворитель *in vacuo* и полученный остаток растворяли в смеси DCM/вода 1:1 (40 мл). Двухфазную смесь разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM (2×10 мл). Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток (843 мг) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 97/3. Собирали фракции, соответствующие указанным в заголовке соединениям. Одну фракцию перекристаллизовывали из DIPE с получением соединения 282/387 (146 мг, 24%). Вторую фракцию очищали с помощью препаративной HPLC с применением в качестве неподвижной фазы: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, и в качестве подвижной фазы: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN с получением соединения 386 в виде белого твердого вещества (82 мг, 13,8%).

Соединение 390 и соединение 391.



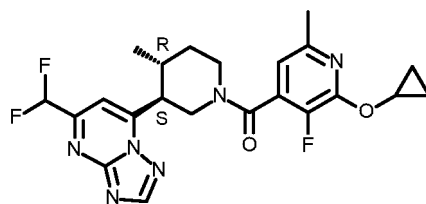
Соед. № 390



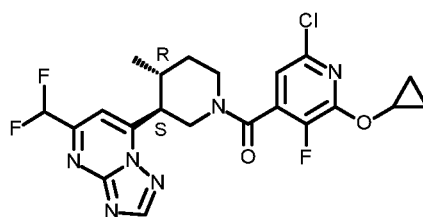
Соед. № 391

В пробирку для проведения реакций под давлением загружали соединение 271 (150 мг, 0,37 ммоль), циклопропилбороновую кислоту (127,2 мг, 1,48 ммоль) и толуол (3,0 мл) и полученное дегазировали в течение 15 мин перед последовательным добавлением ацетата палладия(II) (4,1 мг, 0,0185 ммоль), трициклогексилфосфина (10,4 мг, 0,037 ммоль), дистиллированной воды (0,734 мл, 40,65 ммоль) и трехосновного фосфата калия (235,7 мг, 1,11 ммоль). Пробирку закупоривали, реакц. см. помещали на масляную баню с температурой 100°C и перемешивали в течение 16 ч. Полученный раствор охлаждали до к.т. и фильтровали через подушку из Celite®, которую промывали толуолом и EtOAc. Фильтрат выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в EtOAc и промывали водой и солевым раствором, затем высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали *in vacuo*. Полученный остаток (155 мг) очищали с помощью препаративной HPLC с применением в качестве неподвижной фазы: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 30×150 мм, и в качестве подвижной фазы: 0,5% раствор NH_4Ac в воде+10% CH_3CN , MeOH, с получением соединения 390 (18 мг, 11,7%) и соединения 391 (66 мг, 43,4%) после растириания с гептаном.

Соединение 392.



Стадия 1. Соединение 393.



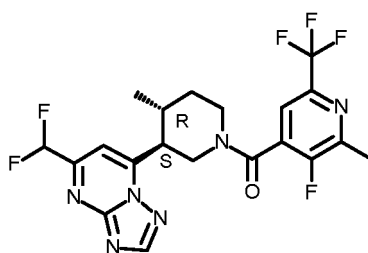
К раствору соединения 71 (436 мг, 0,95 ммоль) в DMF (7,35 мл) добавляли фторид цезия (577 мг, 3,8 ммоль) и полученную смесь перемешивали и дегазировали в течение 15 мин. Добавляли циклопропанол (0,072 мл, 1,14 ммоль) и реакц. см. нагревали при 110°C в течение 2 ч под действием микроволнового излучения. Растворитель удаляли *in vacuo*, затем полученный остаток растворяли в смеси DCM/вода 1:1

(20 мл). Полученную двухфазную смесь разделяли, затем экстрагировали водный слой с помощью DCM (2×10 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле, с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 99/1 с получением соединения 393 (308 мг) в виде вещества с примесями, которое применяли как таковое на следующей стадии.

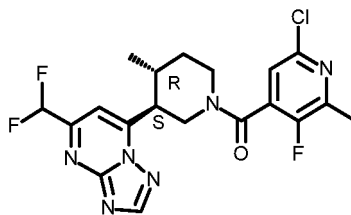
Стадия 2. Соединение 392.

Раствор соединения 393 (308 мг, 0,64 ммоль) в 1,4-диоксане (4,6 мл) дегазировали в течение 15 мин, затем последовательно добавляли K_2CO_3 (310 мг, 2,24 ммоль), триметилбороксин (0,550 мл, 1,92 ммоль, 3,5 М в THF) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (74,015 мг, 0,064 ммоль) и полученную смесь нагревали при 100°C в течение 2,5 ч в пробирке для проведения реакций под давлением. Растворитель удаляли *in vacuo* и полученный остаток разделяли между DCM (10 мл) и водой (10 мл). Полученную двухфазную смесь разделяли и экстрагировали водный слой с помощью DCM (3×10 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученный остаток (340 мг) очищали с помощью препаративной HPLC с применением в качестве неподвижной фазы: RP Vydac® Denali® C18-10 мкм, 200 г, I.D. 5 см, и в качестве подвижной фазы: MeOH, с получением соединения 392 (55 мг, 18,6%) в виде белых кристаллов после перекристаллизации из DIPE.

Соединение 394.

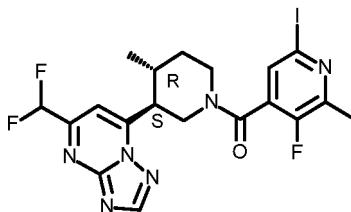


Стадия 1. Соединение 395.



К перемешанной суспензии промежуточного соединения 9-b (750 мг, 2,47 ммоль) в DCM (20 мл) последовательно добавляли EDCI (993 мг, 5,2 ммоль) и 6-хлор-3-фтор-2-метилизоникотиновую кислоту (промежуточное соединение 50, 492 мг, 2,6 ммоль). Затем к смеси добавляли DIPEA (1,78 мл, 10,4 ммоль) и полученный желтый раствор перемешивали при к.т. в течение 5 ч. Реакц. см. гасили водным раствором NaOH (20 мл, 1 М). Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×10 мл) и объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток (1,5 г) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 99/1 с получением соединения 395 (720 мг, 62%) в виде белой пены.

Стадия 2. Промежуточное соединение 56.



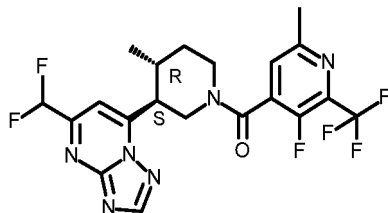
Йодтриметилсилан (0,065 мл, 0,46 ммоль) добавляли к раствору соединения 395 (200 мг, 0,46 ммоль) в пропонионитриле (0,8 мл) в атмосфере азота. Затем добавляли йодид натрия (205 мг, 1,37 ммоль) и полученный раствор нагревали до 80°C. Через 5 ч результаты анализа LCMS показали лишь 15% превращения, поэтому добавляли еще одну порцию йодтриметилсилана (0,065 мл, 0,456 ммоль) и реакц. см. перемешивали при 80°C в течение 22 ч. По истечении этого времени добавляли еще одну порцию йодтриметилсилана (0,065 мл, 0,456 ммоль) и йодида натрия (205 мг, 1,37 ммоль) и реакц. см. перемешивали в течение 12 ч. Удаляли растворитель *in vacuo*, затем полученный остаток разделяли между водой и DCM. Полученную двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель удаляли *in vacuo*. Полученный остаток (1,5 г) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле

с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 97,5/2,5 с получением промежуточного соединения 56 (162 мг) в виде вещества с примесями, применяемого как таковое на следующей стадии.

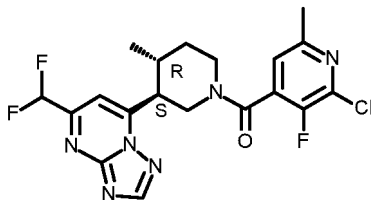
Стадия 3. Соединение 394.

Метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфонил)ацетат (0,192 мл, 1,51 ммоль) добавляли к смеси промежуточного соединения 56 (160 мг, 0,3 ммоль) и йодида меди (75 мг, 0,39 ммоль) в безводном DMF (0,958 мл) в пробирке для проведения реакций под давлением. Полученную смесь нагревали до 80°C в течение 2 ч на масляной бане. Реакц. см. охлаждали до к.т., затем гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl . Полученную смесь экстрагировали с помощью EtOAc (3×15 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель удаляли *in vacuo*. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии с применением в качестве элюента градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 60/40 с получением соединения 394 (17,5 мг, 12%).

Соединение 396.

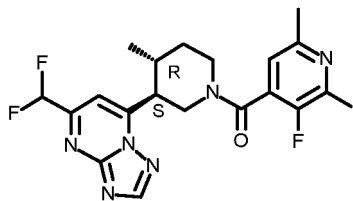


Стадия 1. Соединение 397.



К перемешанной суспензии промежуточного соединения 9-b (740,1 мг, 2,44 ммоль) в DCM (18,5 мл) добавляли EDCI (934 мг, 4,87 ммоль) и 2-хлор-3-фтор-6-метилизоникотиновую кислоту (485 мг, 2,56 ммоль). Добавляли DIPEA (1,68 мл, 9,74 ммоль) и реакц. см. перемешивали в течение 2 ч при к.т. Реакц. см. гасили водным раствором NaOH (30 мл, 1 М). Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×15 мл) и объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток (1,5 г) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 99/1 с получением соединения 397 (854 мг, 80%) в виде белого порошка.

Стадия 2. Промежуточное соединение 57.



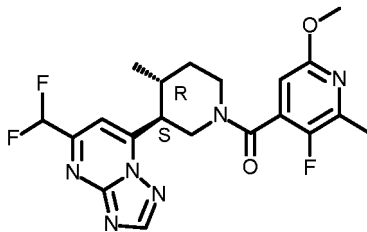
Йодтриметилсилан (0,26 мл, 1,82 ммоль) добавляли к раствору соединения 397 (400 мг, 0,91 ммоль) в пропониотриле (1,6 мл) в атмосфере азота. Затем добавляли йодид натрия (410 мг, 2,73 ммоль) и полученный раствор нагревали до 80°C в течение 1,5 ч. Удаляли растворитель *in vacuo*, затем полученный остаток разделяли между водой и EtOAc. Полученную двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (3×20 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 97,5/2,5 с получением промежуточного соединения 57 (197 мг) в виде вещества с примесями, которое применяли как таковое на следующей стадии.

Стадия 3. Соединение 396.

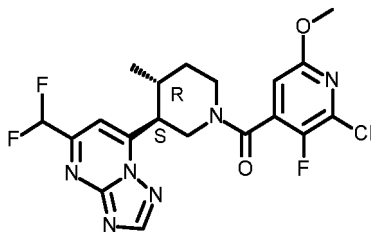
К раствору промежуточного соединения 57 (197 мг, 0,37 ммоль) в безводном DMF (1,18 мл) добавляли йодид меди (92 мг, 0,48 ммоль) и полученную смесь дегазировали с помощью азота в течение 10 мин. Затем добавляли метил-2,2-дифтор-2-(фторсульфонил)ацетат (0,236 мл, 1,86 ммоль) и реакц. см. перемешивали и нагревали при 80°C в течение 2 ч, по истечении которых ее оставляли охлаждаться до к.т. в течение ночи. Реакц. см. гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl . Полученную смесь экстрагировали с помощью EtOAc (6×20 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель удаляли *in vacuo*. Полученный остаток (550 мг) очищали с помощью препаратив-

ной HPLC с применением в качестве неподвижной фазы: RP XBridge Prep C18 OBD-10 мкм, 50×150 мм, и в качестве подвижной фазы: CH₃CN, с получением соединения 396 (7,4 мг, 4%).

Соединение 398.



Стадия 1. Соединение 399.

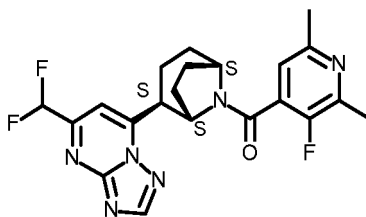


К перемешанному раствору промежуточного соединения 9-b (242 мг, 0,8 ммоль) и 2-хлор-3-фтор-6-метоксиизоникотиновой кислоты (промежуточного соединения 53, 172 мг, 0,84 ммоль) в DCM (6,35 мл) добавляли EDCI (320,5 мг, 1,67 ммоль), с последующим добавлением DIPEA (0,57 мл, 3,34 ммоль). Реакц. см. перемешивали при к.т. в течение ночи. Добавляли другую порцию EDCI (80 мг, 0,417 ммоль) и DIPEA (0,1 мл, 0,75 г/мл, 0,58 ммоль) и реакц. см. перемешивали в течение 12 ч, затем ее гасили водным раствором NaOH (20 мл, 1 М). Водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл) и объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток (600 мг) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 98,5/1,5 с получением соединения 399 (136 мг, 80%) в виде белой пены.

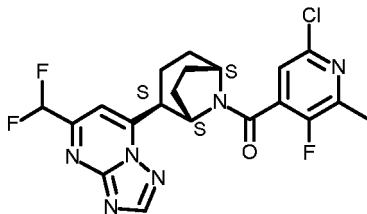
Стадия 2. Соединение 398.

Раствор соединения 399 (136 мг, 0,299 ммоль) в 1,4-диоксане (2,17 мл) дегазировали в течение 15 мин в пробирке для проведения реакций под давлением. Последовательно добавляли K₂CO₃ (144,6 мг, 1,05 ммоль), триметилбороксин (0,256 мл, 0,897 ммоль, 3,5 М в THF) и Pd(PPh₃)₄ (34,5 мг, 0,03 ммоль) и полученную смесь нагревали при 100°C в течение 2 ч. Удаляли растворитель *in vacuo* и полученный остаток разделяли между DCM и водой. Полученную двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×15 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученный остаток (220 мг) очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 96/4 с получением соединения 398 (88 мг, 68%).

Соединение 400.



Стадия 1. Соединение 401.



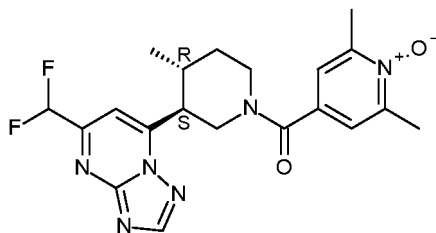
К раствору 6-хлор-3-фтор-2-метилизоникотиновой кислоты (промежуточного соединения 50, 150 мг, 0,79 ммоль) в DCM (30 мл) добавляли DIPEA (0,65 мл, 3,77 ммоль) и HBTU (300 мг, 0,79 ммоль). Затем добавляли промежуточное соединение 25-a (238 мг, 0,75 ммоль) и реакц. см. перемешивали в течение ~1,5 ч при к.т. Реакц. см. гасили водным раствором NaOH (1 мл, 1 М) и затем фильтровали через фильтр

Extrelute®. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 98/2 с получением соединения 401 (320,5 мг, 83%) в виде бесцветного масла.

Стадия 2. Соединение 400.

Раствор соединения 401 (320 мг, 0,71 ммоль) в 1,4-диоксане (5,1 мл) дегазировали в течение 15 мин. Последовательно добавляли K_2CO_3 (343,3 мг, 2,45 ммоль), триметилбороксин (0,608 мл, 2,129 ммоль, 3,5 М в THF) и $Pd(PPh_3)_4$ (82,0 мг, 0,071 ммоль) и полученную смесь нагревали при 100°C в течение 2 ч в пробирке для проведения реакций под давлением. Растворитель удаляли *in vacuo* и полученный остаток разделяли между DCM (20 мл) и водой (20 мл). Двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×15 мл). Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 95/5. В результате этого получали смесь эндо-/экзоизомеров (230 мг), которую разделяли с помощью препаративной HPLC с применением в качестве неподвижной фазы: RP XBridge® Prep C18 OBD-10 мкм, 50×150 мм, и в качестве подвижной фазы: MeOH. Фракции, содержащие продукт, выпаривали и полученный остаток перекристаллизовывали из Et_2O с получением соединения 400 (57 мг, 18,6%).

Соединение 402.



К раствору соединения 1 из WO 2017/076900 (250 мг, 0,624 ммоль) в DCM (1,6 мл) добавляли mCPBA (307,825 мг, 1,25 ммоль) при 10°C и полученную смесь перемешивали в Easymax® в течение 3 дней. По истечении этого времени реакц. см. гасили насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (1,5 мл). Двухфазную смесь разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×5 мл). Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Полученный остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле, с применением в качестве элюента градиента DCM/MeOH от 100/0 до 96/4, с получением соединения 402 (250 мг, 96%) в виде белого порошка.

Аналитическая часть

Значения температуры плавления.

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

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

Таблица 2

№ соедин.	Т. пл. (°C)
22	217,82
23	169,13
25a	240,33
25b	239,55
29	176,52
31	190,16
40	181,11
49	263,81
52	228,39
69	209,73
72	177,60
77	177,37
79	227,10
93	201,12
102	215,44
106	273,02
108	151,39
111	188,75
116	192,09
118	179,82
120	173,99
122	160,20
123	203,87
126	114,32
127	139,13
129	140,78
130	193,85
131	224,39
132	116,57
133	152,33
137	229,91
189	152,03
191	162,07
192	110,16
194	167,52
201	140,14
202	78,65
203	204,03
204	205,47

№ соедин.	Т. пл. (°C)
206	145,73
207	173,79
209	145,19
210	195,81
211	117,50
213	169,70
214	203,97
220	155,37
221	122,37
224	153,14
225	178,64
228	178,21
270	213,25
271	247,40
281	114,59
282/387	193,33
295	178,8
336	255,11
310	240,9
321	137,5
322	180,27
324	204,06
325	226,36
327	194,86
328	247,48
329	227,79
331	193,87
332	183,18
333	291,55
334	239,87
336	255,11
355	146,08
356	187,93
360	264,8
363	221,75
353	230,66
375	171,51
376	175,71
377	183,67
385	220,89

Способы LC/MS.

Измерения в ходе осуществления высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) проводили с помощью насоса для LC, детектора на диодной матрице (DAD) или УФ-детектора, и колонки, как

описано в соответствующих способах. При необходимости включали дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (MS), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области техники находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т.п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор и обработку данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения. Соединения описывали с помощью их экспериментальных значений времени удерживания (R_t) и ионов. Если не указано иное, то в таблице данных указанный молекулярный ион представляет собой $[M+H]^+$ (протонированную молекулу) и/или $[M-H]^-$ (депротонированную молекулу). В случае если соединение не было непосредственно способно к ионизации, указывают тип аддукта (т.е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т.д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl) сообщаемое значение представляет собой значение, которое получали для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с применяемым способом.

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

Таблица 3А. Коды способов LCMS (скорость потока выражена в мл/мин; температура колонки (Т) в °С; время анализа в мин)

Код СПОСОБА	ПРИБОР	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	СКОРОСТЬ ПОТОКА ----- Т колонки	ВРЕМЯ АНАЛИЗА (МИН.)
А	Waters: Acquity® UPLC® – DAD/SQD	Waters: БЕН C18 (1,7 мкм, 2,1 * 50 мм)	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин, удерживание в течение 0,7 мин.	0,8 ----- 55	2
В	Waters: Acquity® UPLC® – DAD и SQD	Waters: БЕН C18 (1,7 мкм, 2,1 * 50 мм)	А: 25 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин, удерживание в течение 0,7 мин.	0,8 ----- 55	2
С	Waters: Acquity® UPLC® – DAD и SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1 * 100 мм)	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN В: CH ₃ CN	От 100% А до 5% А за 2,10 мин., до 0% А за 0,90 мин., до 5% А за 0,5 мин.	0,7 ----- 55	3,5
Д	Waters: Alliance® –DAD – ZQ и ELSD 2000	Колонка Xterra MS C18 (3,5 мкм, 4,6×100	А: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN	От 100% А до 1% А, 49% В и 50% С за 6,5 мин., до 1%	1,6 ----- 40	11

	Alltech	мм)	В: CH ₃ CN С: CH ₃ ОН D: (40% CH ₃ CN, и 40% CH ₃ ОН, и 20% H ₂ O с 0,25% CH ₃ COOH	А и 99% В за 0,5 мин., до 100% D за 1 мин. с удерживание м в течение 1,0 мин. до 100% А за 0,5 мин. и с удерживание м в течение 1,5 мин.		
Е	Waters: Acquity® UPLC® – DAD– ELSD и SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1 * 50 мм)	А: 0,1% НСООН+5% CH ₃ ОН в H ₂ O В: CH ₃ CN	От 95% А до 0% А за 2,50 мин., до 5% А за 0,5 мин.	0,7 ----- 55	3

Таблица 3В. Данные анализа LCMS-R_t означает время удерживания (в минутах),
[M+H]⁺ означает массу протонированного соединения, способ означает способ,
применяемый для анализа (LC)MS

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

7	0,94	390	388	A
8	0,87	376	374	A
9	0,96	382	380	A
10	0,99	443	441	A
11	0,76	389	387	A
12	0,84	425	423	A
13	0,7	456	514 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
14	0,66	339	337	A
15	0,69	371	369	A
16	0,85	370	428	A
17	0,82	405	403	A
18	0,72	385	383	A
19	0,68	391	389	A
20	0,84	444	442	A
21	0,82	377	375	A
22	0,84	401	459 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
23	1,57	391	389	C
24a	1,85	445	503 [M+CH ₃ COO] ⁻	C
24b	1,86	445	443	C
25a	1,54	441	439	C
25b	1,55	441	439	C
26a	1,46	376	374	C
26b	1,46	376	374	C
27	1,65	421	419	C
28	1,73	439	437	C
29	0,72	413	411	A
30	0,72	413	411	A
31	0,72	413	411	A
32	0,74	401	399	A
33	1,66	447	445	C
34	1,66	447	445	C

35	1,59	492	490	C
36	0,85	421	419	A
37	1,68	435	433	C
38	1,36	419	417	C
39	1,84	475	473	C
40	0,69	412	410	A
41	0,85	455	453	A
42	1,6	407	405	C
43	0,9	441	439	A
44	0,96	443	441	A
45	0,98	443	441	A
46	0,98	443	441	A
47	1,79	413	411	C
48	1,03	426	424	A
49	0,88	401	399	A
50	1,58	427	425	C
51	0,81	421	419	A
52	0,9	455	453	A
53	0,82	417	415	A
54	0,87	425	423	A
55	1,7	425	423	C
56	1,64	434	432	C
57	1,45	376	374	C
58	1,31	376	374	C
59	1,8	480	478	C
60	1,74	451	449	C
61	0,74	404	402	A
62	1,50	417	415	C
63	1,88	452	450	C
64	1,8	441	439	C
65	1,84	406	404	C
66	1,53	403	401	C
67	1,53	375	373	C
68	0,78	405	403	A

69	0,96	412	410	A
70	0,81	419	417	A
71	0,99	459	457	A
72	2,02	446	444	C
73	0,95	443	441	A
74	1,97	448	446	C
75	1,97	448	506 [M+CH ₃ COO] ⁻	C
76	1,1	434	432	A
77	0,97	430	428	A
78	0,94	425	423	A
79	0,82	432	430	A
80	1,6	415	413	C
81	1,57	419	417	C
82	1,58	419	417	C
83	0,9	421	419	A
84	0,78	405	403	A
85	1,63	401	399	C
86	1,5	417	415	C
87	0,68	363	361	A
88	0,71	444	442	A
89	0,91	457	455	A
90	0,9	411	409	A
91	1,05	478	476	A
92	1,85	426	424	C
93	1,77	427	425	C
94	1,99	479	477	C
95	1,37	405	403	C
96	1,77	428	426	C
97	0,88	412	470 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
98	1,7	442	440	C
99	1,2	376	374	C
100	1,72	443	441	C

101	0,99	429	427	A
102	1,01	420	418	A
103	1,03	430	428	A
104	1,52	413	411	C
105	1,86	442	440	C
106	1,67	411	409	C
107	1,04	445	443	A
108	0,95	437	435	A
109	1,9	398	396	C
110	0,86	417	415	A
111	1,04	440	438	A
112	1,67	429	427	C
113	1,03	443	441	A
114	1	425	423	A
115	1,02	418	416	A
116	0,76	413	411	A
117	1,79	382	380	C
118	1,01	442	440	A
119	1,96	442	440	C
120	1,78	431	429	C
121	1	472	470	A
122	2	445	443	C
123	1	400	398	A
124	0,78	415	413	A
125	1,78	453	451	C
126	0,95	392	390	A
127	1,61	427	425	C
128	1,8	438	436	C
129	1,95	438	436	C
130	0,94	436	434	A
131	0,88	411	409	A
132	0,93	455	453	A
133	0,93	468	466	A
134	1,78	437	435	C

135	1,03	430	428	A
136	1,99	418	416	C
137	0,93	401	399	A
138	0,88	416	474 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
139	1,43	376	374	C
140	1,98	438	436	C
141	0,81	402	400	A
142	1,32	388	386	C
143	0,77	401	—	A
144	1,94	472	470	C
145	0,89	430	428	A
146	1,32	439	437	C
147	1,88	426	424	C
148	1,89	458	456	C
149	1,72	408	406	C
150	1,38	388	386	C
151	1,41	438	436	C
152	1,56	377	375	C
153	1,70	451	449	C
154	1,67	407	405	C
155	1,47	391	389	C
156	1,46	377	375	C
157	1,60	377	375	C
158	1,33	394	392	C
159	1,65	421	419	C
160	1,57	377	375	C
161	1,76	445	443	C
162	1,36	388	386	C
163	1,52	398	396	C
164	1,32	376	374	C
165	2,04	459	456	C
166	1,43	404	402	C
167	1,73	441	439	C

168	0,75	406	404	A
169	1,98	474	472	C
170	1,83	461	459	C
171	1,96	459	457	C
172	1,86	455	453	C
173	1,35	423	421	C
174	1,58	417	415	C
175	1,77	439	437	C
176	1,52	413	411	C
177	1,36	376	374	C
178	1,45	426	424	C
179	1,46	416	414	C
180	1,88	412	410	C
181	1,32	388	386	C
182	1,73	459	457	C
183	1,54	413	411	C
184	1,50	377	375	C
185	0,83	423	421	A
186	0,76	406	404	A
187	1,79	413	411	C
188	1,62	427	425	C
189	1,00	422	420	A
190	0,87	415	413	A
191	0,93	440	438	A
192	0,96	456	454	A
193	0,96	456	454	A
194	1,93	458	456	C
195	0,88	420	418	A
196	0,81	403	401	A
197	0,86	397	395	A
198	0,69	390	388	A
199	0,66	405	405	B
200	0,88	457		A

201	0,92	412	470 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
202	0,76	362		A
203	0,76	455	455	A
204	0,76	455		A
205	0,89	412		A
206	1,00	400		A
207	0,65	390	448 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
208	0,93	392		A
209	0,91	412		A
210	0,75	401		A
211	0,75	401		A
212	0,69	412		A
213	0,91	392	390	A
214	0,99	400	398	A
215	0,92	457		A
216	1,20	376	374	C
217	1,79	382	380	C
218	1,90	398	396	C
219	0,94	443	441	A
220 (.HCl)	0,78	401		A
221	0,89	412	410	A
222	0,90	405	403	A
223	0,94	405	403	A
224	0,79	395	393	A
225	1,52	385	383	C
226	1,11	452	450	A
227	1,60	429	427	C
228	0,92	429	427	A
229	0,87	387	385	A
230	1,37	405	403	C
231	0,64	413	411	A

232	1, 46	388	386	C
233	1, 37	388	386	C
234	1, 51	398	396	C
235	1, 53	407	405	C
236	1, 25	390	388	C
237	1, 54	408	406	C
238	1, 62	432	430	C
239	1, 63	441	439	C
240	1, 38	362	360	C
241	1, 93	474	472	C
242	1, 85	475	473	C
243	1, 49	363	361	C
244	1, 36	388	386	C
245	1, 81	426	424	C
246	1, 65	431	429	C
247	1, 90	470	468	C
248	1, 28	374	372	C
249	1, 32	374	372	C
250	1, 53	391	389	C
251	1, 55	391	389	C
252	1, 57	391	389	C
253	1, 65	441	439	C
254	1, 53	391	389	C
255	1, 51	406	404	C
256	1, 34	374	372	C
257	1, 38	374	372	C
258	1, 93	419	417	C
259	2, 35	484	482	C
260	1, 51	377	375	C
261	1, 36	389	387	C
262	1, 51	391	389	C
263	1, 78	455	453	C
264	1, 54	407	405	C
265	1, 65	427	425	C

266	2,41	485	483	C
267	0,91	456	454	A
268	1,67	441	439	C
269	0,90	431	429	A
270	0,85	439	437	A
271	0,78	405	403	A
272	0,73	417	415	A
273	1,98	438	436	C
274	1,73	439	437	C
275	1,73	417	415	C
276	1,06	461	459	A
277	0,97	449	507 [M+CH ₃ COO] ⁻	A
278	1,01	445	443	A
279	0,97	445	443	A
280	1,16	483	481	A
281	1,89	453	451	C
282/387	0,93	435	433	A
283	1,75	445	443	C
284	5,27	433	431	A
285	1,76	467	465	C
286	1,76	467	465	C
287	1,79	453	451	C
288	0,78	431	429	A
289	1,01	425	423	A
290	0,87	429	427	A
291	0,92	423	421	A
292	442,83		440	442 C
293	0,95	465	463	A
294	0,82	449	447	A
295	0,9	437	435	A
296	0,94	468	466	A
297	0,91	437	435	A
298	0,86	463	461	A

299	0,92	437	435	A
300	0,98	437	435	A
301	0,89	445	443	A
302	0,98	412	410	A
303	0,79	439	437	A
304	0,92	425	423	A
305	0,76	439	437	A
306	0,79	439	437	A
307	0,99	437	435	A
308	0,87	435	433	A
309	0,81	453	451	A
310	0,87	469	467	A
311	0,75	435	433	A
312	0,82	453	431	A
313	0,8	435	433	A
314	0,75	435	433	A
315	0,76	435	433	A
316	1,08	435	–	E
317	0,76	435	433	A
318	1,15	435	–	E
319	0,97	434	432	A
320	0,94	434	432	A
321	0,88	437	435	A
322	0,75	423	421	A
323	0,87	423	421	A
324	0,81	423	481 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
325	0,82	441	439	A
326	0,75	423	421	A
327	0,9	425	423	A
328	0,91	425	483 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
329	0,88	457	515 [M+CH ₃ COO ⁻]	A

331	0,98	422	480 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
332	0,83	441	499 [M+CH ₃ COO ⁻]	A
333	1,01	452	450	A
334	1,03	440	438	A
335	1,7	458	456	C
336	0,93	448	446	A
337	0,9	420	418	A
338	1,00	470	468	A
339	0,99	432	430	A
340	0,98	452	450	A
341	0,9	420	418	A
342	1,02	486	484	A
343	1,72	432	430	C
344	1,87	434	432	C
345	1,8	935 [2M+1]	466	C
346	1	430	428	A
347	0,9	404	402	A
348	1,04	430	428	A
349	0,91	404	402	A
350	0,98	464	462	A
351	0,97	424	422	A
352	1,02	490	488	A
353	1,74	424	422	C
354	0,83	388	386	A
355	1,96	465	463	C
356	1,01	452	450	A
357	1,91	470	468	
358	1,83	418	416	C
359	1,81	450	448	C
360	0,74	430	428	A
361	0,68	417	415	A

362	1,79	427	425	C
363	1,84	451	449	C
364	0,8	444	442	A
365	1,64	413	411	C
366	0,75	413	411	A
367	0,7	416	414	A
368	0,82	455	453	A
369	1	432	430	A
370	0,97	442	440	A
371	0,96	424	422	A
372	0,94	440	438	A
373	1,8	451	449	C
374	0,94	455	453	A
375	1,01	432	430	A
376	0,92	448	446	A
377	0,95	436	434	A
378	0,88	455	453	A
379	0,7	438	436	A
380	0,78	438	436	A
381	0,71	436	434	A
382	0,74	438	436	A
383	0,85	450	448	A
384	0,88	457	455	A
385	0,9	455	453	A
386	1,55	431	429	C
282/387	0,93	435	433	A
390	0,99	417	415	E
391	1,25	411	409	E
392	1,01	461	459	A
394	1,01	473	471	A
396	1,88	473	471	C
398	0,99	435	433	A
400	0,78	431	429	A
402	0,62	417	415	A
403	0,9	455	453	A
404	0,93	451	449	A
405	0,91	451	449	A
406	0,75	438	436	A

Способы SFC-MS.

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы сверхкритической флюидной хроматографии (SFC), укомплектованной насосом для двухкомпонентных смесей для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенным проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающей значения не более 400 бар. При оснащении масс-спектрометром (MS) поток из колонки направлялся в (MS). В компетенции специалиста в данной области техники находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т.п.) с целью получе-

ния ионов, позволяющих определить номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор и обработку данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Таблица 4А. Аналитические способы SFC-MS (скорость потока выражена в мл/мин; температура колонки (Т) в °С; время анализа в мин, противодавление (BPR) в барах)

Код СПОСОБА	Колонка	Подвижная фаза	ГРАДИЕНТ	СКОРОСТЬ ПОТОКА	ВРЕМЯ АНАЛИЗА
				----- - Т КОЛОНКИ	----- BPR
1	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: EtOH+0,2% iPrNH ₂	40% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5	7
				----- 40	----- 110

2	Колонка Daicel Chiralpak® AD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2% iPrNH ₂	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
3	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: (EtOH- iPrOH)+0,2% iPrNH ₂	35% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
4	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2% iPrNH ₂	25% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
5	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2% iPrNH ₂	30% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
6	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2% iPrNH ₂	40% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110

7	Колонка Daicel Chiralpak® AD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH+0,2% iPrNH ₂	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
8	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: (MeOH- iPrOH)+0,2% iPrNH ₂	25% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
9	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: (MeOH- iPrOH)+0,2% iPrNH ₂	30% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
10	Колонка Daicel (AD, OD, OJ, AS,)-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: 3 разных растворителя , применяемых для В: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2% iPrNH ₂	от 10% до 40% В за 19,4 мин., от 40 до 50% за 2,00 мин., удерживание 3,6 мин.	3 ----- 30	25 ----- 110

13	Колонка Daicel AS-H (5,0 мкм, 500×4,6 мм)	А: CO ₂ В: 3 разных растворителя , применяемых для В: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2% iPrNH ₂	от 10% до 40% В за 19,4 мин., от 40 до 50% за 2,00 мин., удерживание 3,6 мин.	3 ----- 50	25 ----- 110
12	Колонка Daicel AS-H (5,0 мкм, 500×4,6 мм)	А: CO ₂ В: 3 разных растворителя , применяемых для В: (MeOH, EtOH, iPrOH) +0,2% iPrNH ₂	20% В, удерживание 17,5 мин., от 20 до 50% за 3,00 мин., удерживание 4,1 мин.	3 ----- 50	25 ----- 110
13	Колонка Daicel OJ-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: 3 разных растворителя , применяемых для В: MeOH+0,2% iPrNH ₂	12% В, удерживание 10 мин.	3 ----- 30	10 ----- 110
14	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	А: CO ₂ В: MeOH+0,2% iPrNH ₂	20% В, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110

15	Колонка Daicel Chiralpak® OD-H (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2% iPrNH ₂	30% B, удерживание 4 мин., до 50% за 1 мин., удерживание 2 мин.	5 ----- 40	7 ----- 110
16	Колонка Daicel Chiralpak® OD-3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2% iPrNH ₂	от 10% до 50% B за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
17	Колонка Daicel Chiralpak® AD3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2% iPrNH ₂	от 10% до 50% B за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 130
18	Колонка Daicel Chiralpak® IC3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH+0,2% iPrNH ₂	от 10% до 50% B за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 130

Таблица 4В. Аналитические данные SFC-R_t означает время удерживания (в минутах),
[M+H]⁺ означает массу протонированного соединения, способ означает способ,
применяемый для анализа энантиомерно чистых соединений с помощью (SFC)MS

№ соед.	R _t (мин.)	[M+H] ⁺	Способ	Порядок элюирования
1a	3,66	365	14	Энантиомер 2
1b	2,51	365	14	Энантиомер 1
3a	3	365	8	Энантиомер 1

3b	2,11	365	8	Энантиомер 2
24a	1,05	445	6	Энантиомер 1
24b	1,52	445	6	Энантиомер 2
25a	4,79	441	16	Энантиомер 1
25b	5,48	отсутстви е ответа	16	Энантиомер 1
28	3,95	439	2	Энантиомер 2
29	1,33	413	15	Энантиомер 2
30	2,54	413	15	Энантиомер 1
33	5,45	447	7	Энантиомер 1
34	4,85	447	7	Энантиомер 2
45	1,2	443	4	Энантиомер 2
46	1,56	443	4	Энантиомер 1
62	3,42	417	2	
73	2,47	448	5	Энантиомер 1
75	1,42	448	5	Энантиомер 2
81	2,81	419	2	Энантиомер 1
82	3,25	419	2	Энантиомер 2
86	3,09	417	2	Энантиомер 2
95	6,8	405	7	Энантиомер 2
97	5,22	412	13	Н. д.
99	3,33	376	3	Энантиомер 2
104	1,67	413	1	Энантиомер 2
109	2,54	398	1	Н. д.
116	2,12	382	9	Энантиомер 2
123	5,72	400	10	Н. д.
140	4,67	438	2	Энантиомер 2
201	8,79	412	11	Энантиомер 1
203	9,22	455	12	Энантиомер 1
204	7,53	455	12	Энантиомер 1
216	2,2	376	3	Энантиомер 1
217	1,29	382	9	Энантиомер 1
218	1,33	398	1	Энантиомер 1
230	6,35	405	7	Энантиомер 2
273	4,21	438	2	Энантиомер 2
274	4,5	439	2	
285	6,81	467	18	Диастереомер 4
286	4,95	467	18	Диастереомер 3
392	2,64	461	17	Энантиомер 1

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР).

¹H ЯМР-спектры записывали либо на спектрометре Bruker DPX-400 со стандартными последовательностями импульсов, работающем при 400 МГц, либо на Bruker DPX-360, работающем при 360 МГц, с применением DMSO-d₆ (дейтерированный DMSO, диметил-d₆-сульфоксид) в качестве растворителя.

Значения химического сдвига (δ) указаны в частях на миллион (ppm) относительно тетраметилсилана (TMS), который применяли в качестве внутреннего стандарта.

Соед. № 25а: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСИЯ) δ ppm 1,74-1,93 (m, 4H), 1,97-2,11 (m, 3H), 2,31-2,45 (m, 1H), 4,06-4,23 (m, 1H), 4,61 (br s, 1H), 4,82 (br s, 1H), 7,02 (t, J=54,2 Гц, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,78 (dd, J=8,4, 1,8 Гц, 1H), 8,17 (d, J=8,4 Гц, 1H), 8,44 (br s, 1H), 8,47 (d, J=1,2 Гц, 1H), 9,45 (s, 1H).

Соед. № 93: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСИЯ) δ ppm 0,84 (d, J=6,6 Гц, 3H), 0,88-0,98 (m, 4H), 1,45 (qd, J=12,4, 4,4 Гц, 1H), 1,91 (br dd, J=13,4, 2,6 Гц, 1H), 2,06-2,14 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,45-2,49 (m, 1H), 3,13 (br t, J=11,6 Гц, 1H), 3,37 (dd, J=12,9, 11,1 Гц, 1H), 3,60 (td, J=10,9, 4,0 Гц, 1H), 4,17 (br s, 2H), 6,79-7,23 (m, 3H), 7,57 (s, 1H), 8,72 (s, 1H);

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

Соед. № 110: ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 при 100 ГРАДУСАХ ЦЕЛЬСИЯ) δ ppm 0,83 (d, J=6,6 Гц, 3H), 1,39-1,50 (m, 1H), 1,85-1,95 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,44-2,48 (m, 1H), 3,13 (br t, J=12,3 Гц, 1H), 3,37 (dd, J=13,0, 11,2 Гц, 1H), 3,58 (td,

J=10,9, 4,0 Гц, 1H), 3,88 (s, 3H), 4,13 (br s, 2H), 6,58 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 7,01 (t, J=54,2 Гц, 1H), 7,56 (s, 1H), 8,71 (s, 1H);

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

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

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

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

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

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

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

Фармакологические примеры

Соединения, предусмотренные в настоящем изобретении, являются ингибиторами PDE2, в частности PDE2A. Результаты тестирования соединений в нескольких фармакологических анализах показаны ниже.

Анализ PDE2A in vitro

Рекомбинантную PDE2A (hPDE2A) человека экспрессировали в клетках Sf9 с применением рекомбинантной конструкции rPDE10A на основе бакуловируса. Клетки собирали через 48 ч после инфицирования и белок hPDE2A очищали с помощью металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе 6FF. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Разбавления соединения (0,4 мкл) добавляли в 384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мм Tris, pH 7,8, 8,3 mM MgCl₂, 1,7 mM EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл фермента hPDE2A и реакцию начинали путем добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 10 мкМ cGMP и 0,01 мкКи ^3H -cGMP. Реакционную смесь инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл, дополненных 200 mM ZnCl₂. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount, и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления

DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения подбирали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}).

Анализ PDE3A *in vitro*

Рекомбинантную PDE3A (hPDE3A) человека приобретали в виде частично очищенного лизата клеток насекомых от Scottish Biomedical, ее клонировали из головного мозга человека и экспрессировали в клетках Sf9. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Разбавления соединения (0,4 мкл) добавляли в 384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мМ Tris, pH 7,8, 8,3 мМ $MgCl_2$, 1,7 мМ EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл фермента hPDE3A и реакцию начинали путем добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 0,4 мМ cAMP и 2,4 мКи/мл [3H]-cAMP. Реакционную смесь инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл, дополненных 200 мМ $ZnCl_2$. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount, и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения подбирали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}).

Анализ PDE10A *in vitro*

Рекомбинантную PDE10A крысы (rPDE10A2) экспрессировали в клетках Sf9 с применением рекомбинантной конструкции rPDE10A на основе бакуловируса. Клетки собирали через 48 ч после инфицирования и белок rPDE10A очищали с помощью металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе 6FF. Тестируемые соединения растворяли и разбавляли в 100% DMSO до 100-кратной концентрации относительно конечной концентрации в анализе. Рекомбинантную PDE10A (hPDE2A) человека экспрессировали в клетках Sf9 с применением рекомбинантной конструкции hPDE10A на основе бакуловируса, которую получали и амплифицировали в лаборатории. Клетки собирали через 72 ч после инфицирования и белок hPDE10A очищали с помощью металл-хелатной хроматографии на Ni-сефарозе. Разбавления соединения (0,4 мкл) добавляли в 384-луночные планшеты к 20 мкл буфера для инкубации (50 мМ Tris, pH 7,8, 8,3 мМ $MgCl_2$, 1,7 мМ EGTA). В буфер для инкубации добавляли 10 мкл фермента rPDE10A или hPDE10A и реакцию начинали посредством добавления 10 мкл субстрата до конечной концентрации, составляющей 60 нМ cAMP и 0,008 мКи 3H -cAMP. Реакционную смесь инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. После инкубации реакцию останавливали с помощью 20 мкл стоп-реагента, состоящего из гранул с PDE для SPA (сцинтилляционного анализа сближения) при концентрации 17,8 мг/мл. После осаждения гранул в течение 30 мин измеряли радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Perkin Elmer Topcount, и результаты выражали в имп./мин. Для получения значений для холостой пробы фермент не включали в реакционную смесь и замещали буфером для инкубации. Контрольные значения получали путем добавления DMSO в конечной концентрации 1% вместо соединения. Кривую наилучшего приближения подбирали по точкам с помощью способа наименьшей суммы квадратов на графике зависимости % контрольного значения с вычтенным значением для холостой пробы от концентрации соединения, и на основании этой кривой получали значение концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}).

Табл. 5: данные *in vitro* для соединений по настоящему изобретению. По умолчанию данные в отношении ингибирования PDE10A относятся к человеческому клону (также обозначенному (h)), если не указано (r), относящееся к крысиному клону.

Таблица 5

№ соед.	pIC ₅₀ hPDE2A	E _{max} hPDE2A	pIC ₅₀ hPDE3B	E _{max} hPDE3 B	pIC ₅₀ hPDE10A2 или rPDE10A2	E _{max} hPDE10A2 или rPDE10A2
1b	5,96	88	<5	13	5,01	50
1a	9,1	100	5,68	65	7,89	98
2b	7,72	100	<5	31	6,57	95
2a	9,23	101	6,11	98	8,14	101
3b	5,25	64	<5	14	<5	19
3a	8,24	97	5,46	77	6,57	93
4	8,84	100	5,24	70	7,62	99
5	9,02	100	6,23	97	8,05	100
6	8,79	99	6,17	97	7,75	100
7	9,1	100	7,12	100	7,77	101
8	8,96	100	6,56	97	7,95	100
9	7,86	101	5,37	74	7,13	100
10	8,96	100	7,14	101	8,34	100
11	7,64	100	5,32	69	6,43	95
12	7,67	101	5,96	94	6,44	97
13	7,98	100	<5	38	6,46	95
14	8,22	99	5,33	70	7,05	99
15	8,49	100	5,09	54	7,14	97
16	8,21	100	5,78	88	7,2	98
17	8,31	99	5,37	74	7,09	97
18	8,33	100	5,19	65	6,71	97
19	7,98	101	5,51	79	6,89	96
20	7,92	101	5,37	74	6,88	98
21	8,34	99	5,82	89	6,88	97
22	8,63	100	5,82	87	7,8	99
23	9,33	101	5,98	90	8,15	100
24a	5,59	80	<5	31	<5	23
24b	8,19	98	<5	28	5,13	60
25a	9,15	100	5,04	57	6,41	96
25b	5,96	92	<5	37	<5	28

26a	<5	21	<5	0	<5	7
26b	8,17	98	<5	41	6,63	95
27	9,04	100	<5	37	5,96	88
28	9,02	101	<5	17	6,35	95
29	8,82	101	<5	18	6,16	90
30	5,45	77	<5	8	<5	32
31	8,6	100	<5	8	5,95	84
32	8,46	100	<5	31	5,84	81
33	7,83	99	<5	25	5,21	67
34	5,71	88	<5	31	<5	28
35	8,17	100	<5	1	5,59	76
38	8,21	100	<5	43	5,64	80
39	8,08	98	<5	16	5,51	75
40	9,45	101	5,15	58	6,91 (h) 7,1 (r)	97 (h) 96 (r)
41	7,86	99	<5	17	5,38	72
42	8,94	100	<5	48	6,5	95
43	8,3	99	<5	29	5,88	88
44	8,02	100	<5	39	5,59	79
45	<5	37	<5	1	<5	24
46	7,82	100	<5	5	5,65	86
47	8,6	99	5,47	80	6,19	92
48	9,76	100	7,06	99	7,36	100
49	8,68	99	5,24	42	6,29	95
50	8,51	100	<5	61	6,14	93
51	8,26	101	<5	44	5,9	86
52	7,86	101	<5	22	5,52	76
53	8,25	100	5,17	62	6,11	89
54	8,38	100	5,02	51	6,18	89
55	7,9	101	<5	41	5,75	83
56	7,3	101	<5	38	5,25	63
57	7,56	100	<5	21	5,5	78
58	7,61	99	<5	18	5,35	69
59	8,43	98	5,07	56	6,23	95

039788

60	9,07	100	5,96	92	6,82	97
61	8,36	101	<5	45	6,34	92
63	8,14	100	5,16	60	6,06	89
64	8,8	99	5,17	62	6,45	96
65	8,9	100	5,17	70	6,6	95
66	7,76	99	<5	48	5,64	79
67	8,59	99	<5	49	6,54	94
68	8,2	99	5	50	5,86	85
69	9,39	102	6,42	95	7,34	100
70	8,76	102	5,21	63	6,42	95
71	8,73	98	<6	32	6,47	94
72	8,99	100	<6	46	6,98	92
73	8,71	101	5,58	83	6,66	98
74	7,52	101	<5	30	<5	36
75	5,53	81	<5	22	<5	27
76	9,64	99	5,91	91	7,5	101
77	9,34	101	6,17	96	7,08	98
78	9	102	5,8	87	6,98	98
79	8,76	99	6,04	93	6,72	97
80	9,1	100	5,38	71	7,09	98
81	5,15	59	<5	17	<5	1
82	7,47	101	<5	9	<5	18
83	9,03	100	5,1	58	7,01	98
84	8,5	101	5,13	30	6,15	89
85	8,19	100	5,11	37	5,92	88
87	6,67	98	<5	11	5,34	69
88	9,68	101	6,41	97	8,4	99
89	9,64	104	6,84	96	7,68 (h) 7,92 (r)	101 (h) 98 (r)
90	9,45	101	6,67	98	7,71	102
91	9,43	100	6,15	61	7,65	94
92	9,4	100	5,88	88	7,61	98
93	9,4	101	5,61	84	7,44	99
94	9,3	101	6,98	99	7,93	97

039788

95	9,29	100	5	55	7,32	98
96	9,26	100	6,4	73	7,48	95
97	9,24	101	5,89	93	7,27 (h) 7,46 (r)	101 (h) 99 (r)
98	9,22	100	6,22	94	7,4	98
99	9,22	100	5,68	87	8,02	100
100	9,18	101	6,57	99	7,79	100
101	9,18	101	5,32	70	7,24	98
102	9,17	100	<6	44	7,58	95
103	9,15	99	7,06	100	7,74	100
104	9,09	100	6,29	92	7,13	98
105	9,06	101	5,87	90	7,53	101
106	9,05	100	6,41	98	7,67	99
107	9,04	100	5,38	61	7,09	99
108	9,04	100	5,57	80	7,28	99
109	9,03	101	6,34	98	8,18	99
110	9,02	101	5,58	78	7,14	98
111	9,01	100	5,98	92	7,42	99
112	9	101	5,75	84	7,32	99
113	9	99	5,95	88	7,42	99
114	8,98	100	7,05	98	7,34	101
115	8,98	100	5,71	87	7,11	99
116	8,94	100	6,07	97	8,01	99
116	8,95	101	5,66	82	7,1	98
118	8,78	101	6,02	92	7,13	99
119	8,76	100	7,21	101	7,11	99
120	8,76	100	6,15	95	6,7	96
121	8,75	99	6,29	95	7,23	96
122	8,73	100	5,74	86	7,13	100
123	8,71	99	5,79	87	7,04	99
124	8,69	99	6,38	98	7,44	98
125	8,68	100	6,23	96	6,23	96
126	8,68	101	5,22	65	6,95	97
127	8,65	99	6,36	94	7,59	99

039788

128	8,64	100	6,03	90	6,81	98
129	8,64	101	5,71	85	7,04	99
130	8,61	100	5,76	87	6,87	96
131	8,61	98	5,11	61	7,39	99
132	8,6	101	<5	46	6,7	98
133	8,53	100	5,79	85	6,87	98
134	8,5	101	5,65	84	6,8	100
135	8,48	100	5,58	81	6,72	97
136	8,47	101	<5	51	6,54	97
137	7,55	100	<5	35	5,87	84
139	7,54	99	<5	20	5,62	78
140	7,53	100	5,05	57	5,51	83
141	7,53	100	<5	12	5,69	81
142	7,52	100	<5	35	5,59	79
143	7,48	97	5,1	58	5,62	77
144	7,46	100	5,62	86	6,33	96
145	7,44	99	5,69	86	6,19	93
147	7,42	100	5,65	81	6,06	90
148	7,41	101	5,25	67	6,04	89
149	7,41	99	5,29	66	5,74	83
150	7,4	100	<5	22	5,45	72
152	7,38	99	<5	30	5,69	80
153	7,36	100	5,51	76	5,97	89
154	7,29	100	<5	50	5,56	79
155	7,27	98	<5	37	5,53	72
156	7,23	100	<5	19	5,7	81
157	7,22	99	<5	33	5,59	75
158	7,19	100	<5	19	5,67	78
159	7,14	100	<5	42	5,49	75
160	7,14	99	<5	34	5,99	88
161	7,13	98	<5	11	5,51	74
162	7,13	97	<5	26	5,37	72
163	7,05	98	<5	12	5,49	74
164	7,05	100	<5	22	5,71	82

165	7,03	100	<5	36	5,46	78
166	7,03	98	<5	32	5,65	81
167	7,01	97	5,27	64	5,7	81
168	8,4	98	5,29	66	7,27	99
169	8,43	98	5,75	82	6,75	98
170	8,34	100	5,67	84	5,89	84
171	7,93	99	5,94	93	6,45	97
172	8,34	101	6,57	98	7,49	100
173	7,86	101	<5	31	6,52	96
174	8,28	99	5,88	85	6,24	88
175	8,31	100	5,22	71	6,85	98
176	8,04	100	5,06	56	6,05	88
177	8,02	99	<5	21	6,34	93
178	7,87	101	5,13	62	6,1	92
179	7,67	100	<5	32	6,27	90
180	8,3	100	5,29	66	6,76	97
181	8,34	98	<5	52	6,51	94
182	7,6	100	<5	44	6,38	95
183	7,58	99	<5	36	5,64	79
184	7,55	100	<5	17	5,56	75
186	7,97	100	5,22	69	6,47	95
187	7,75	99	5,46	74	6,37	95
188	8,07	99	5,81	87	6,68	98
189	8,29	100	5,56	80	6,73	96
190	7,99	100	<5	39	6,8	96
191	7,89	100	5,41	74	6,65	97
192	8,03	99	6,14	95	7,14	99
193	8,23	100	5,46	76	6,86	98
194	7,73	99	5,34	57	6,58	97
195	8,35	98	5,25	70	6,43	93
196	7,63	99	5,31	68	6,25	92
197	7,99	98	<5	42	6,68	96
198	8,25	98	<5	35	6,38	91
199	7,27	92	5,08	62	5,23 (h)	62 (h)

					5,32 (r)	21 (r)
200	7,01	91	<5	35	<5	13
201	6,19	61	<5	24	5,51 (r)	-1 (r)
202	5,57	30	<5	18	<5 (h) <5 (r)	38 (h) 4 (r)
203	6,02	48	<5	41	<5 (r)	14 (r)
204	6,79	88	5,13	48	<5 (r)	13 (r)
205	8,94	99	5,65	83	7,01	98
206	5,78	39	<5	-1	<5	16
207	5,1	21	<5	2	<5	-5
208	6,23	62	<5	30	<5	4
209	6,14	57	<5	25	<5	7
210	6,21	56	<5	5	<5	16
211	<5	3	<5	13	<5	10
212	6,24	61	<5	7	<5	8
213	5,63	28	<5	11	<5	23
214	5,2	9	<5	9	<5	30
215	6,58	82	5	45	5,13	63
216	6,36	98	<5	26	5,35	67
217	6,25	99	<5	37	5,32	72
218	6,69	100	<5	51	5,65	85
219	6,86	100	<5	18	5,04	45
220 (.HCl)	6,01	54	<5	7	<5	27
221	5,92	45	<5	4	<5	26
222	6,55	98	<5	13	5,17	59
223	6,71	98	<5	19	5,46	71
226	9,06	100	6,89	100	7,09	100
227	8,66	101	6,42	95	7,34	98
228	9,65	100	5,92	91	7,77	100
229	6,25	95	<5	18	<5	33
230	5,99	93	<5	40	5,27	65
231	8,87	97	5,04	57	7,71	100
232	6,67	99	<5	31	<5	48

039788

233	6, 24	94	<5	10	<5	26
234	6, 29	96	<5	22	5, 06	59
235	6, 91	98	<5	32	5, 26	67
236	6, 68	100	<5	18	5, 11	58
237	6, 73	97	<5	20	5, 09	51
238	6, 42	94	<5	35	5	48
239	6, 72	96	<5	16	<5	43
240	5, 81	90	<5	9	5, 04	51
241	7, 68	97	5, 76	88	6, 57	94
242	6, 87	97	5, 21	67	5, 09	56
243	6, 88	99	<5	13	5, 44	70
244	6, 17	92	<5	12	5, 03	54
245	6, 91	99	5, 23	62	5, 66	79
246	6, 9	98	<5	25	<5	44
247	6, 81	98	5, 69	85	5, 54	77
248	6, 46	95	<5	2	4, 98	49
249	6, 43	95	<5	10	<5	45
250	6, 88	99	<5	28	5, 31	64
251	6, 55	98	<5	17	5, 06	53
252	6, 15	96	<5	17	5, 17	66
253	6, 34	95	<5	17	<5	39
254	6, 97	99	<5	25	5, 42	70
255	6, 57	95	<5	28	5, 11	58
256	6, 49	97	<5	12	5	48
257	6, 58	95	<5	15	<5	45
258	6, 82	99	5, 81	89	5, 9	90
259	6, 37	99	5, 45	82	5, 77	92
260	6, 86	97	<5	23	5, 53	74
261	6, 44	95	<5	19	<5	45
262	6, 81	101	<5	37	5, 49	74
263	6, 89	99	5, 31	65	5, 29	64
264	6, 98	100	4, 98	47	5, 48	74
265	8, 62	102	5, 2	55	7, 43	98
266	6, 38	100	5, 27	74	5, 58	89

039788

267	9,4	102	7,21	100	7,95	99
268	5,72	82	<5	13	<5	39
269	9,15	101	5,43	78	6,16	93
270	8,63	100	<5	29	6,57	96
271	8,53	99	5,13	61	6,79	95
272	8,66	102	5,05	54	6,1	93
273	8,63	100	6,09	96	6,01	96
274	6,54	97	<5	7	5,22	63
1a	9,1	100	5,68	65	7,89	98
1b	5,96	88	<5	13	5,01	50
2a	9,23	101	6,11	98	8,14	101
2b	7,72	100	<5	31	6,57	95
3a	8,24	97	5,46	77	6,57	93
3b	5,25	64	<5	14	<5	19
4	8,84	100	5,24	70	7,62	99
5	9,02	100	6,23	97	8,05	100
6	8,79	99	6,17	97	7,75	100
7	9,1	100	7,12	100	7,77	101
8	8,96	100	6,56	97	7,95	100
9	7,86	101	5,37	74	7,13	100
10	8,96	100	7,14	101	8,34	100
11	7,64	100	5,32	69	6,43	95
12	7,67	101	5,96	94	6,44	97
13	7,98	100	<5	38	6,46	95
14	8,22	99	5,33	70	7,05	99
15	8,49	100	5,09	54	7,14	97
16	8,21	100	5,78	88	7,2	98
17	8,31	99	5,37	74	7,09	97
18	8,33	100	5,19	65	6,71	97
19	7,98	101	5,51	79	6,89	96
20	7,92	101	5,37	74	6,88	98
21	8,34	99	5,82	89	6,88	97
22	8,63	100	5,82	87	7,8	99
23	9,33	101	5,98	90	8,15	100

24a	5, 59	80	<5	31	<5	23
24b	8, 19	98	<5	28	5, 13	60
25a	8, 97	100	5, 06	54	6, 23	94
25b	5, 96	92	<5	37	<5	28
26a	<5	21	<5	0	<5	7
26b	8, 17	98	<5	41	6, 63	95
27	9, 04	100	<5	37	5, 96	88
28	9, 02	101	<5	17	6, 35	95
29	8, 82	101	<5	18	6, 16	90
30	5, 45	77	<5	8	<5	32
31	8, 6	100	<5	8	5, 95	84
32	8, 46	100	<5	31	5, 84	81
33	7, 83	99	<5	25	5, 21	67
34	5, 71	88	<5	31	<5	28
35	8, 17	100	<5	1	5, 59	76
36	8, 56	100	5, 4	64	6, 33	93
37	7, 76	100	5, 05	52	6, 37	93
38	8, 21	100	<5	43	5, 64	80
39	8, 08	98	<5	16	5, 51	75
40	9, 45	101	5, 15	58	6, 91 (h) 7, 1 (r)	97 (h) 96 (r)
41	7, 86	99	<5	17	5, 38	72
42	8, 94	100	<5	48	6, 5	95
43	8, 3	99	<5	29	5, 88	88
44	8, 02	100	<5	39	5, 59	79
45	<5	37	<5	1	<5	24
46	7, 82	100	<5	5	5, 65	86
47	8, 6	99	5, 47	80	6, 19	92
48	9, 76	100	7, 06	99	7, 36	100
49	8, 68	99	5, 24	42	6, 29	95
50	8, 51	100	<5	61	6, 14	93
51	8, 26	101	<5	44	5, 9	86
52	7, 86	101	<5	22	5, 52	76
53	8, 25	100	5, 17	62	6, 11	89

54	8,38	100	5,02	51	6,18	89
55	7,9	101	<5	41	5,75	83
56	7,3	101	<5	38	5,25	63
57	7,56	100	<5	21	5,5	78
58	7,61	99	<5	18	5,35	69
59	8,43	98	5,07	56	6,23	95
60	9,07	100	5,96	92	6,82	97
61	8,36	101	<5	45	6,34	92
62	5,52	77	<5	8	<5	36
63	8,14	100	5,16	60	6,06	89
64	8,8	99	5,17	62	6,45	96
65	8,9	100	5,17	70	6,6	95
66	7,76	99	<5	48	5,64	79
67	8,59	99	<5	49	6,54	94
68	8,2	99	5	50	5,86	85
69	9,39	102	6,42	95	7,34	100
70	8,71	102	5,29	66	6,48	93
71	8,73	98	<6	32	6,47	94
72	8,99	100	<6	46	6,98	92
73	8,71	101	5,58	83	6,66	98
74	7,52	101	<5	30	<5	36
75	5,53	81	<5	22	<5	27
76	9,64	99	5,91	91	7,5	101
77	9,34	101	6,17	96	7,08	98
78	9	102	5,8	87	6,98	98
79	8,76	99	6,04	93	6,72	97
80	9,1	100	5,38	71	7,09	98
81	5,15	59	<5	17	<5	1
82	7,47	101	<5	9	<5	18
83	9,03	100	5,1	58	7,01	98
84	8,5	101	5,13	30	6,15	89
85	8,19	100	5,11	37	5,92	88
86	7,3	100	<5	34	<5	40
87	6,67	98	<5	11	5,34	69

88	9,68	101	6,41	97	8,4	99
89	9,64	104	6,84	96	7,68 (h) 7,92 (r)	101 (h) 98 (r)
90	9,45	101	6,67	98	7,71	102
91	9,43	100	6,15	61	7,65	94
92	9,4	100	5,88	88	7,61	98
93	9,34	101	5,59	84	7,4	99
94	9,3	101	6,98	99	7,93	97
95	9,29	100	5	55	7,32	98
96	9,26	100	6,4	73	7,48	95
97	9,24	101	5,89	93	7,27 (h) 7,46 (r)	101 (h) 99 (r)
98	9,22	100	6,22	94	7,4	98
99	9,22	100	5,68	87	8,02	100
100	9,18	101	6,57	99	7,79	100
101	9,18	101	5,32	70	7,24	98
102	9,17	100	<6	44	7,58	95
103	9,15	99	7,06	100	7,74	100
104	9,09	100	6,29	92	7,13	98
105	9,06	101	5,87	90	7,53	101
106	9,05	100	6,41	98	7,67	99
107	9,04	100	5,38	61	7,09	99
108	9,04	100	5,57	80	7,28	99
109	9,03	101	6,34	98	8,18	99
110	8,88	100	5,47	76	6,95	98
111	9,01	100	5,98	92	7,42	99
112	9	101	5,75	84	7,32	99
113	9	99	5,95	88	7,42	99
114	8,98	100	7,05	98	7,34	101
115	8,98	100	5,71	87	7,11	99
117	8,94	100	6,07	97	8,01	99
116	8,95	101	5,66	82	7,1	98
118	8,78	101	6,02	92	7,13	99
119	8,76	100	7,21	101	7,11	99

039788

120	8,76	100	6,15	95	6,7	96
121	8,75	99	6,29	95	7,23	96
122	8,73	100	5,74	86	7,13	100
123	8,71	99	5,79	87	7,04	99
124	8,69	99	6,38	98	7,44	98
125	8,68	100	6,23	96	6,23	96
126	8,68	101	5,22	65	6,95	97
127	8,65	99	6,36	94	7,59	99
128	8,64	100	6,03	90	6,81	98
129	8,64	101	5,71	85	7,04	99
130	8,61	100	5,76	87	6,87	96
131	8,61	98	5,11	61	7,39	99
132	8,6	101	<5	46	6,7	98
133	8,53	100	5,79	85	6,87	98
134	8,5	101	5,65	84	6,8	100
135	8,48	100	5,58	81	6,72	97
136	8,47	101	<5	51	6,54	97
137	7,55	100	<5	35	5,87	84
138	7,55	93	5,31	64	<5	24
139	7,54	99	<5	20	5,62	78
140	7,53	100	5,05	57	5,51	83
141	7,53	100	<5	12	5,69	81
142	7,52	100	<5	35	5,59	79
143	7,48	97	5,1	58	5,62	77
144	7,46	100	5,62	86	6,33	96
145	7,44	99	5,69	86	6,19	93
146	7,43	100	5,78	85	5,48	76
147	7,42	100	5,65	81	6,06	90
148	7,41	101	5,25	67	6,04	89
149	7,41	99	5,29	66	5,74	83
150	7,4	100	<5	22	5,45	72
151	7,39	100	<5	11	5,86	85
152	7,38	99	<5	30	5,69	80
153	7,36	100	5,51	76	5,97	89

154	7,29	100	<5	50	5,56	79
155	7,27	98	<5	37	5,53	72
156	7,23	100	<5	19	5,7	81
157	7,22	99	<5	33	5,59	75
158	7,19	100	<5	19	5,67	78
159	7,14	100	<5	42	5,49	75
160	7,14	99	<5	34	5,99	88
161	7,13	98	<5	11	5,51	74
162	7,13	97	<5	26	5,37	72
163	7,05	98	<5	12	5,49	74
164	7,05	100	<5	22	5,71	82
165	7,03	100	<5	36	5,46	78
166	7,03	98	<5	32	5,65	81
167	7,01	97	5,27	64	5,7	81
168	8,4	98	5,29	66	7,27	99
169	8,43	98	5,75	82	6,75	98
170	8,34	100	5,67	84	5,89	84
171	7,93	99	5,94	93	6,45	97
172	8,34	101	6,57	98	7,49	100
173	7,86	101	<5	31	6,52	96
174	8,28	99	5,88	85	6,24	88
175	8,31	100	5,22	71	6,85	98
176	8,04	100	5,06	56	6,05	88
177	8,02	99	<5	21	6,34	93
178	7,87	101	5,13	62	6,1	92
179	7,67	100	<5	32	6,27	90
180	8,3	100	5,29	66	6,76	97
181	8,34	98	<5	52	6,51	94
182	7,6	100	<5	44	6,38	95
183	7,58	99	<5	36	5,64	79
184	7,55	100	<5	17	5,56	75
185	7,66	98	5,48	79	5,92	87
186	7,97	100	5,22	69	6,47	95
187	7,75	99	5,46	74	6,37	95

188	8,07	99	5,81	87	6,68	98
189	8,29	100	5,56	80	6,73	96
190	7,99	100	<5	39	6,8	96
191	7,89	100	5,41	74	6,65	97
192	8,03	99	6,14	95	7,14	99
193	8,23	100	5,46	76	6,86	98
194	7,73	99	5,34	57	6,58	97
195	8,35	98	5,25	70	6,43	93
196	7,63	99	5,31	68	6,25	92
197	7,99	98	<5	42	6,68	96
198	8,25	98	<5	35	6,38	91
199	7,27	92	5,08	62	5,23 (h) 5,32 (r)	62 (h) 21 (r)
200	7,01	91	<5	35	<5	13
201	6,19	61	<5	24	5,51 (r)	-1 (r)
202	5,57	30	<5	18	<5 (h) <5 (r)	38 (h) 4 (r)
203	6,02	48	<5	41	<5 (r)	14 (r)
204	6,79	88	5,13	48	<5 (r)	13 (r)
205	8,94	99	5,65	83	7,01	98
206	5,78	39	<5	-1	<5	16
207	5,1	21	<5	2	<5	-5
208	6,23	62	<5	30	<5	4
209	6,14	57	<5	25	<5	7
210	6,21	56	<5	5	<5	16
211	<5	3	<5	13	<5	10
212	6,24	61	<5	7	<5	8
213	5,63	28	<5	11	<5	23
214	5,2	9	<5	9	<5	30
215	6,58	82	5	45	5,13	63
216	6,36	98	<5	26	5,35	67
217	6,25	99	<5	37	5,32	72
218	6,69	100	<5	51	5,65	85
219	6,86	100	<5	18	5,04	45

039788

220	6, 52	54	<5	8	<5	41
220 (.HCl)	6, 52	54	<5	8	<5	41
221	5, 92	45	<5	4	<5	26
222	6, 55	98	<5	13	5, 17	59
223	6, 71	98	<5	19	5, 46	71
224	8, 52	100	5, 98	87	7, 15	99
225	7, 94	99	5, 75	83	7, 03	98
226	9, 06	100	6, 89	100	7, 09	100
227	8, 66	101	6, 42	95	7, 34	98
228	9, 65	100	5, 92	91	7, 77	100
229	6, 25	95	<5	18	<5	33
230	5, 99	93	<5	40	5, 27	65
231	8, 87	97	5, 04	57	7, 71	100
232	6, 67	99	<5	31	<5	48
233	6, 24	94	<5	10	<5	26
234	6, 29	96	<5	22	5, 06	59
235	6, 91	98	<5	32	5, 26	67
236	6, 68	100	<5	18	5, 11	58
237	6, 73	97	<5	20	5, 09	51
238	6, 42	94	<5	35	5	48
239	6, 72	96	<5	16	<5	43
240	5, 81	90	<5	9	5, 04	51
241	7, 68	97	5, 76	88	6, 57	94
242	6, 87	97	5, 21	67	5, 09	56
243	6, 88	99	<5	13	5, 44	70
244	6, 17	92	<5	12	5, 03	54
245	6, 91	99	5, 23	62	5, 66	79
246	6, 9	98	<5	25	<5	44
247	6, 81	98	5, 69	85	5, 54	77
248	6, 46	95	<5	2	4, 98	49
249	6, 43	95	<5	10	<5	45
250	6, 88	99	<5	28	5, 31	64
251	6, 55	98	<5	17	5, 06	53

252	6, 15	96	<5	17	5, 17	66
253	6, 34	95	<5	17	<5	39
254	6, 97	99	<5	25	5, 42	70
255	6, 57	95	<5	28	5, 11	58
256	6, 49	97	<5	12	5	48
257	6, 58	95	<5	15	<5	45
258	6, 82	99	5, 81	89	5, 9	90
259	6, 37	99	5, 45	82	5, 77	92
260	6, 86	97	<5	23	5, 53	74
261	6, 44	95	<5	19	<5	45
262	6, 81	101	<5	37	5, 49	74
263	6, 89	99	5, 31	65	5, 29	64
264	6, 98	100	4, 98	47	5, 48	74
265	8, 62	102	5, 2	55	7, 43	98
266	6, 38	100	5, 27	74	5, 58	89
267	9, 4	102	7, 21	100	7, 95	99
268	5, 72	82	<5	13	<5	39
269	8, 93	99	5, 43	78	6, 25	93
270	8, 34	99	<5	29	6, 48	96
271	8, 66	99	5, 13	61	6, 78	95
272	8, 81	97	5, 05	54	6, 28	93
273	8, 63	100	6, 09	96	6, 01	96
274	6, 54	97	<5	7	5, 22	63
275	8, 55	100	6, 01	92	7, 54	100
276	8, 65	100	5, 89	93	6, 78	98
277	7, 12	99	<5	14	<5	27
278	9, 03	99	6, 15	97	6, 84	99
279	8, 65	99	5, 55	86	6, 5	96
280	8, 6	100	6, 03	96	6, 61	99
281	8, 78	100	5, 65	87	6, 96	99
282	8, 54	100	5, 77	88	6, 56	98
283	8, 07	100	<5	38	6, 75	98
284	8, 77	101	5, 9	89	7, 26	98
285	5, 16	65	<5	21	<5	37

286	8,16	101	<5	14	5,65	79
287	8,42	100	5,2	61	6,76	98
288	8,57	101	<5	44	6,38	93
289	8,62	100	6,75	98	7,2	99
290	8,23	98	5,16	53	5,85	89
291	8,57	101	5,58	86	6,29	95
292	8,6	100	5,33	73	6,14	94
293	7,95	100	5,46	80	5,99	90
294	7,97	99	<5	14	5,68	81
295	9,31	101	6,01	94	6,61	98
296	9,34	99	6,1	93	6,92	100
297	8,63	97	5,23	62	6,23	96
298	7,73	99	<5	25	<5	47
299	8,11	99	<5	40	5,67	84
300	8,19	100	5,7	88	5,54	80
301	8,09	100	5,2	62	5,9	89
302	8,19	101	5,1	59	6,05	93
303	8,15	99	5,18	57	6,27	95
304	7,4	100	5,04	48	<5	45
305	7,06	100	<5	7	5,15	57
306	7,35	100	5,35	71	5,44	74
307	8,04	99	5,83	88	6,22	97
308	7,76	98	5,34	72	5,17	66
309	8,53	100	5,12	53	5,82	86
310	8,85	100	5,41	78	6,4	95
311	8,96	96	5,13	62	6,37	96
312	7,66	99	<5	37	6,21	93
313	8,87	97	5,22	61	5,91	86
314	8,24	100	5,45	73	6,03	91
315	6,95	98	<5	20	5,01	47
316	6,59	94	<5	5	<5	14
317	7,07	99	<5	15	<5	34
318	5,82	89	<5	11	<5	13
319	8,95	100	5,99	95	6,58	99

039788

320	7, 27	100	<5	47	5, 15	62
321	8, 66	101	5, 09	45	6, 51	97
322	9, 3	100	6, 32	95	7, 73	99
323	8, 41	100	6, 14	95	6, 65	97
324	9, 07	100	6, 58	97	7, 18	100
325	8, 94	100	6, 51	98	7, 19	98
326	8, 67	100	6, 59	97	7, 22	99
327	9, 38	101	7, 11	99	7, 69	100
328	9, 2	100	5, 83	90	7, 21	100
329	9, 26	100	6, 69	95	7, 67	100
331	9, 32	98	7, 3	99	7, 84	100
332	8, 32	99	5, 92	90	7, 51	98
333	8, 09	99	5, 16	63	6, 15	93
334	8, 61	100	5, 63	84	7	98
335	9, 02	102	5, 14	52	7, 06	98
336	7, 73	101	5, 49	78	5, 72	87
337	6, 78	99	<5	43	5, 34	71
338	7, 04	99	5, 26	62	5, 51	70
339	8, 18	101	5, 32	69	6, 21	95
340	7, 15	100	5, 37	69	5, 48	72
341	6, 85	97	<5	33	5, 3	63
342	7, 49	100	5, 35	69	5, 57	77
343	7, 17	102	<5	44	5, 34	68
344	7, 53	99	5, 14	61	5, 59	80
345	7, 12	99	5, 08	48	5, 43	72
346	8, 28	100	5, 22	68	6, 14	92
347	8, 27	101	5, 14	63	6	91
348	7, 47	99	5, 35	70	5, 89	92
349	7, 65	102	5, 32	64	5, 75	86
350	7, 6	100	5, 31	74	5, 68	85
351	7, 29	99	5, 2	69	5, 67	83
352	8, 12	100	5, 74	89	6, 32	99
353	8, 47	99	5, 32	69	6, 01	94
354	7, 05	100	5, 01	45	5, 35	70

355	9,03	99	6,14	98	6,63	98
356	8,27	99	5,23	65	6,03	92
357	7,11	98	<5	34	5,47	73
358	7,57	102	<5	40	5,1	58
359	7,92	99	5,4	71	5,67	86
360	7,39	97	5,07	50	5,16	55
361	8,56	100	<5	37	6,45	92
362	8,77	99	6,06	88	6,1	93
363	9,56	99	6,21	97	6,75	98
364	8,41	101	5,5	75	5,74	85
365	7,2	99	<5	24	<5	33
366	7,99	99	<5	22	5,24	64
367	6,36	97	<5	21	<5	44
368	8,21	101	5,19	61	6,6	99
369	8,31	100	5,43	72	6,14	93
370	7,47	100	5,84	87	6,18	94
371	7,86	101	6,41	96	6,41	98
372	8,99	100	5,87	90	6,6	96
373	8,57	100	6,27	97	6,5	99
374	9,13	100	6,13	97	6,74	98
375	8,45	101	5,35	73	6,09	94
376	8,37	101	5,47	79	6,51	97
377	7,75	99	5,01	47	5,89	89
378	8,77	99	6,12	96	6,39	97
379	7,95	102	5,28	67	5,79	87
380	8,26	101	5,4	72	6,44	96
381	8,12	99	5	48	5,88	88
382	7,99	99	<5	37	5,4	75
386	8,62	98	5,6	79	6,26	93
387	8,54	100	5,77	88	6,56	98
390	8,68	98	5,59	84	7,21	99
391	8,62	99	5,65	81	7,2	97
392	8,95	99	6,35	97	6,58	93
394	8,03	99	<5	27	5,65	76
396	7,82	98	<5	56	5,83	84
398	8,31	99	5,28	67	6,23	95
400	7,65	99	<5	16	<5	41
402	7,58	100	<5	28	5,83	87

Занятость PDE2 тестируемыми соединениями

Способы.

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

Самцов крыс Wistar (200-250 г) обрабатывали посредством перорального введения среды-носителя

или возрастающих доз [^3H]В-17а и умерщвляли через 1 ч. Головной мозг сразу же удаляли из черепа и подвергали быстрой заморозке в охлажденном сухим льдом 2-метилбутане (-40°C). Срезы полосатого тела толщиной 20 мкм нарезали с помощью криостатного микротомы Leica CM 3050 (van Hooft, Бельгия), помещали в размороженном состоянии на предметные стекла (SuperFrost Plus Slides, LaboNord, Франция) и хранили при -20°C до применения.

После размораживания срезы высушивали в холодном потоке воздуха и инкубировали в течение 1 мин с 30 нМ [^3H]В-17а в Tris-HCl (50 мМ, pH 7,4), содержащем 0,3% BSA. Срезы головного мозга от обработанных лекарственным средством и обработанных средой-носителем животных инкубировали одновременно.

Неспецифическое связывание измеряли на срезах мозжечка, области головного мозга, которая не содержит фермента PDE2A. После инкубации избыток [^3H]В-17а смывали ледяным буфером 2 раза по 10 мин с последующим быстрым погружением в дистиллированную воду. Затем срезы высушивали в потоке холодного воздуха.

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

Табл. 6: PO=перорально; SC=подкожно.

Таблица 6

№ соед.	Занятость PDE2 при 10 мг/кг	Путь введения при определении занятости PDE2 при 10 мг/кг	ED_{50} для занятости PDE	Путь введения при определении ED_{50} для занятости
1a	37	PO		
2b	3	SC		
2a	70	SC		
3a	0	PO		
4	9	PO		
6	67	PO		
13	2	PO		
18	4	PO		
22	18 30	PO PO		
24b	0	SC		
25a	66	SC	4	PO
25b	-9	PO		
27	34	PO		
28	49	SC	25	PO

29	31	SC		
30	0	SC		
32	-6	PO		
33	-7	PO		
35	-3	PO		
36	32	PO	45,2	PO
37	-13	PO		
38	1	PO		
39	-8	PO		
41	8	PO		
42	54	PO		
43	2	PO		
46	-9	PO		
47	5	PO		
48	96	SC		
49	12	SC		
50	-30	PO		
51	20	PO		
52	2	PO		
53	22	PO		
54	39	PO		
59	7	PO		
60	32	PO		
64	7	PO		
65	-23	PO		
	-9	PO		
66	-14	PO		
68	31	SC		
69	0	PO		
70	65	SC	6,4	PO
71	49	SC		
72	0	PO		
73	0	PO		
74	14	SC		

76	17	PO		
77	54 54	PO PO	5, 67	PO
78	77	SC		
79	15 0	PO PO		
80	52	SC	8, 63	PO
82	28	PO		
83	82	PO		
84	45	PO	14, 13	PO
85	1	SC		
89	88	SC		
90	73	SC		
91	-7	PO		
93	85	PO	7, 8	PO
95	27	SC		
96	1	PO		
97	92	PO		
99	1	PO		
101	43	SC		
102	-4	PO		
103	42	SC		
106	-0	PO		
107	29	PO		
108	65	PO	4, 8	PO
109	43	PO		
110	75	PO	8, 3	PO
115	23	PO		
117	8	PO		
116	3	SC		
120	12	PO		
121	-15	PO		
122	0	PO		
123	4	PO		

125	-16	PO		
126	31	PO		
127	34	PO		
	53	SC		
129	21	PO		
130	0	PO		
131	-0	PO		
132	76	SC	5	PO
133	-19	PO		
134	21	PO		
139	-11	PO		
169	3	PO		
170	1	PO		
184	-2	PO		
186	8	SC		
187	0	SC		
188	2	SC		
189	9	PO		
190	1	PO		
191	-18	PO		
192	-13	PO		
193	-11	PO		
	-3	SC		
195	-7	PO		
	-13	SC		
196	0	PO		
197	8	PO		
220	-8	PO	>80	PO
223	19	PO		
224	-6	PO		
225	-6	PO		
227	18	SC		
228	92	SC	1, 5	PO
231	-13	SC		

267	59	PO	11	PO
269	22	PO	24,2	PO
270	6	PO		
272	3	PO		
273	65	SC		
275	23	PO		
277	-4	PO		
278	30	PO		
281	57	PO	4,2	PO
282	47	PO	11,8	PO
	47	PO		
283	-12	PO		
284	16	PO		
286	5	PO		
287	43	PO		
290	-3	PO		
291	38	PO		
292	23	PO		
293	6	PO		
294	17	PO		
295	71	PO	5,63	PO
296	88	PO		
297	-2	PO		
299	31	PO		
300	-11	PO		
301	-7	PO		
302	1	PO		
303	17	PO		
307	8	PO		
308	18	PO		
309	12	PO		
310	52	PO	9,6	PO
311	-1	PO		
312	-16	PO		

313	28	PO		
314	5	PO		
319	37	PO		
321	73	PO	3, 37	PO
328	-18	PO		
332	8	PO		
334	17	PO		
335	88	PO	0, 985	PO
339	-1	PO		
346	19	PO		
347	11	PO		
352	16	PO		
353	15	PO		
356	51	PO	5, 55	PO
362	3	PO		
363	-11	PO		
364	-5	PO		
366	18	PO		
368	11	PO		
369	9	PO		
386	23	PO		
387	47	PO	11, 8	PO
	47	PO		
391	3	PO		
392	46	PO		
398	29	PO		

Эффект соединения 110 в отношении синаптической передачи

Важные реагенты.

Сахарозный буфер для препарирования, содержащий (в mM) сахарозу (150), NaCl (40), KCl (4), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,3), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (7), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,5), D-глюкозу (10), уравновешенный газовой смесью 95% O_2 и 5% CO_2 . Искусственная цереброспинальная жидкость (ACSF), применяемая в ходе уравновешивания и регистрации, содержала (в mM): NaCl (124), KCl (2,7), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,25), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,3), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2), D-глюкозу (10), аскорбиновую кислоту (2), уравновешенную газовой смесью 95% O_2 и 5% CO_2 . ACSF получали с CNQX и кинуреновой кислотой в концентрации 50 мкМ и 1 мМ соответственно. Тестируемые соединения получали непосредственно перед применением из исходного раствора (с помощью DMSO) в ACSF и с конечной концентрацией DMSO, которая не превышала 0,1%. Все реагенты были от Sigma-Aldrich, если не указано иное.

Животные (вид, вес и пол).

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

Получение срезов гиппокампа.

Горизонтальные срезы головного мозга (300 мкм) получали из средней-вентральной части гиппокампа самцов крыс Спраг-Дули, которых анестезировали изофлураном согласно стандартному протоколу. Срезы нарезали с помощью вибрационного микротом для тканей (Leica VT1200S) в холодном (4°C) сахарозном буфере для препарирования со скоростью 0,1 мм/с. После нарезания срезы оставляли для уравновешивания при 35°C в течение 20 мин, а затем обеспечивали восстановление при к.т. в течение по меньшей мере одного часа в искусственной цереброспинальной жидкости (ACSF). Из одного головного мозга получали от трех до четырех срезов.

Система тестирования.

Все данные регистрировали с помощью установки MEA, коммерчески доступной от Multichannel

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

Схема эксперимента.

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

Регистрация данных внеклеточного полевого потенциала.

После получения срезы головного мозга помещали на чип MEA под микроскопом и размещали 60 регистрирующих электродов в области синапса мшистых волокон (зубчатая извилина - СА3) гиппокампа. Растворы ACSF непрерывно перфузировали со скоростью потока 2 мл/мин Температуру в камере MEA поддерживали на уровне $32 \pm 0,1^\circ\text{C}$, при этом элемент Пельтье был расположен на основном модуле с усилителем MEA. Все данные регистрировали с помощью установки MEA, коммерчески доступной от Multichannel Systems MCS GmbH (Ройтлинген, Германия). Два соседних электрода в чипе выбирали для стимуляции мшистых волокон в области хилуса зубчатой извилины и fEPSP регистрировали в терминальной зоне области СА3 гиппокампа. Полевые внеклеточные постсинаптические потенциалы (fEPSP) вызывали путем стимуляции входного сигнала на мшистых волокнах с помощью двух последовательных электрических импульсов с интервалом 30 мс и повторяли каждые 60 с (длительность импульса составляла 100 мкс, и сила стимулирующего тока (мкА) составляла 40% относительно максимальной амплитуды). Контрольные эксперименты проводили одновременно со срезами, которые произвольным образом относили к обрабатываемым с помощью среды-носителя (DMSO). N обозначает число срезов, и, как правило, 3-4 среза использовали из расчета на каждое животное. Вызванные ответы на уровне постсинаптических нейронов (fEPSP) регистрировали, если они удовлетворяли определенным критериям качества, в том числе: правильное расположение, стабильный фон (отклонение в пределах $\pm 10\%$ в течение десяти последовательных минут, амплитуда > 100 мкВ). Данные fEPSP от выбранных электродов собирали при 5 кГц и записывали на жесткий диск ПК для осуществления анализа в режиме офлайн. Одновременно значения амплитуды fEPSP от выбранных электродов собирали в режиме реального времени (с помощью программы MC Rack) для контроля и отслеживания качества эксперимента. Данные наносили на график в файле электронной таблицы для осуществления анализа в режиме офлайн.

Слабую долговременную потенциацию (LTP) вызывали с помощью однократного высокочастотного стимула (HFS) с обеспечением потенциации fEPSP, меньше максимальной.

Результаты этого теста показаны на фиг. 1, что касается эффекта соединения 110 в качестве ингибитора PDE2 в отношении содействия индукции LTP с помощью протокола слабой долговременной потенциации.

Эффект соединений 70, 25a и 220 (свободное основание) в отношении синаптической передачи

Важные реагенты.

Сахарозный буфер для препарирования, содержащий (в mM) NaCl (124), KCl (4,4), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,2), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2), D-глюкозу (10), уравновешенный газовой смесью 95% O_2 и 5% CO_2 . Искусственная цереброспинальная жидкость (ACSF), применяемая в ходе уравновешивания и регистрации, содержала (в mM): NaCl (124), KCl (4,4), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,2), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2), NaHCO_3 (26), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2), D-глюкозу (10), аскорбиновую кислоту (2), уравновешенные газовой смесью 95% O_2 и 5% CO_2 . Соединения 1, 2 и 3 получали непосредственно перед применением из исходного раствора (с DMSO) в ACSF и с конечной концентрацией DMSO, которая не превышала 0,1%. Все реагенты были от Sigma-Aldrich, если не указано иное.

Животные (вид, вес и пол).

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

Получение срезов гиппокампа.

Крыс подвергали анестезии с помощью изофлурана и немедленно подвергали декапитации. Головной мозг помещали вблизи агарозного блока и разрезали горизонтально с помощью лезвия,двигающегося от передней к задней части. Срезы нарезали при толщине 350 мкм с применением вибрационного микротомы для тканей (Leica VT1200S) в холодной (4°C) насыщенной диоксидом углерода искусственной спинномозговой жидкости (ACSF) со скоростью 0,08 мм/с и амплитудой колебаний 0,75 мм. После нарезания срезы уравновешивали при 35°C в течение 20 мин, а затем обеспечивали восстановление при

комнатной температуре в течение по меньшей мере одного часа в ACSF. Обычно получали шесть-восемь срезов из каждого головного мозга и применяли три-четыре на эксперимент.

Система тестирования.

Все данные регистрировали с помощью системы Slicemaster, коммерчески доступной от Scientific (UK), состоящей из 4 регистрирующих станций. Стимулирующий электрод из платины, покрытый Isonel, помещали в область CA3 гиппокампа крысы. Регистрирующие микроэлектроды (сопротивление приблизительно 5 МОм) заполняли ACSF и помещали в CA1 гиппокампа крысы. Расположение стимулирующих и регистрирующих электродов подтверждали с помощью применения стимуляции током 20 с. Применяли предварительную регистрацию 20 мин, чтобы удостовериться в стабилизации ответов от срезов. Стимуляцию током применяли с помощью разъединителя тока A365 (World Precision Instruments). Данные получали с помощью pClamp 10, связанного с платой сбора данных Digidata 1440A (Molecular Devices, Саннивейл, Калифорния, США), при частоте регистрации сигналов от образцов 10 кГц с фильтрацией низких частот при 1 кГц и фильтрацией высоких частот при 3 Гц. Применяли стимулы в одну сотню мкс в диапазоне 0-100 мкА для вызова fEPSP и величину fEPSP определяли путем измерения максимальной отрицательной амплитуды или 20-80% наклона восходящей фазы. Данные анализировали в режиме офлайн с применением специально разработанных алгоритмов в Igorpro (Wavemetrics).

Схема эксперимента.

Эффект соединений 70, 25a и 220 (свободное основание) в отношении синаптической передачи исследовали путем регистрации внеклеточных полевых потенциалов в срезах гиппокампа. Хорошо известно, что синаптическая передача может обеспечивать отклонение внеклеточного полевого потенциала, что отражает синхронную синаптическую активность в популяции нейронов, окружающих регистрирующий электрод.

Регистрация данных внеклеточного полевого потенциала.

После восстановления срезы непрерывно перфузировали с помощью обогащенной кислородом ACSF (2,5 мл/мин). Раствор предварительно нагревали на водяной бане перед закачиванием в регистрирующую камеру. Регистрацию данных проводили при 32°C. Регистрировали одновременно fEPSP от четырех независимых срезов головного мозга. N обозначает число срезов, и, как правило, 3-4 среза использовали из расчета на каждое животное. Вызванные ответы на уровне пост-синаптических нейронов (fEPSP) регистрировали, если они удовлетворяли определенным критериям качества, в том числе: правильное расположение, стабильный фон (отклонение в пределах $\pm 10\%$ в течение десяти последовательных минут, амплитуда > 100 мкВ). Данные fEPSP от выбранных электродов собирали при 5 кГц и записывали на жесткий диск ПК для осуществления анализа в режиме офлайн. Одновременно значения амплитуды fEPSP собирали в режиме реального времени (с помощью Pclamp) для контроля и отслеживания качества эксперимента. Данные наносили на график в файле электронной таблицы для осуществления анализа в режиме офлайн.

Получали кривые ввода-вывода и интенсивность стимуляции устанавливали при 50% от диапазона между минимальным и максимальным fEPSP (определенным с помощью либо силы стимуляции, достаточной для получения популяционного спайка, либо плато амплитуды fEPSP). В случае экспериментов LTP срезы затем стимулировали каждые 60 с в течение 20 мин исходного периода (среда-носитель с соединением или без него) и последующей немедленной тета-импульсной стимуляцией (показано на фиг. 2). После тета-импульсной стимуляции срезы затем стимулировали каждые 60 с в течение 60 мин для измерения уровня LTP.

Результаты данного теста показаны на фиг. 3 в отношении эффекта соединения 70, на фиг. 4 в отношении эффекта соединения 25a и на фиг. 5 в отношении эффекта соединения 220 (свободное основание) в отношении содействия индукции LTP с помощью протокола слабой долговременной потенциации.

Исследование PK/PD однократной дозы PDE2i на собаках

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

Образцы CSF и крови на исходном уровне отбирали за 2-5 дней перед введением дозы. Животным не давали пищи в течение ночи и на следующее утро вводили дозу натошак (перорально с помощью зонда). В предварительно определенные периоды времени после введения дозы собирали кровь и/или CSF для измерения уровней соединения и cGMP. Анализ cGMP выполняли с помощью LC-MS/MS: 25 мкл CSF разбавляли с помощью 125 мкл искусственной CSF (STIL (20 нг/мл)), центрифугировали и вводили в колонку 25 мкл. Применяемые системы представляли собой: систему для UPLC Shimadzu SIL-30 (коллонка Nupercarb (50×1 мм (3 мкм)), градиент: водный раствор основания (10 mM карбоната аммония)-ацетонитрил (от 5% до 98% за 5,5 мин) при скорости потока 250 мкл/мин) и систему API Sciex 5500, оснащенную источником ESI (селективный MRM переход (масса/заряд 346,1→152,1 (время выдержки 75 мс))). Результаты этого исследования обобщены на фиг. 6-15.

Повышение синаптической пластичности с помощью ингибирования PDE2 в цепи коллатералей шаффера-CA1 гиппокампа у подвергнутых анестезии крыс: ситуационное исследование с применением соединения 110

Введение.

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

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

В данном исследовании изучали, приводит ли ингибирование PDE2 с помощью соединения 110 к изменениям в возбудимости или в способности проявления синаптической потенции в синапсах коллатералей Шаффера-CA1 гиппокампа у подвергнутых анестезии с помощью уретана крыс Спраг-Дуули.

Материалы и способы

Животные.

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

Хирургическое вмешательство и электрофизиология.

Крыс подвергали анестезии с помощью внутрибрюшинной инъекции уретана в дозе 1,5 г/кг веса тела. Животным надевали стереотаксическую раму для вживления электродов, и температуру их тела постоянно контролировали с помощью ректального зонда и поддерживали на уровне 37°C с помощью электрической грелки. Дополнительное введение уретана (0,2-0,5 г/кг) проводили при необходимости обеспечения полной анестезии. Два небольших отверстия (диаметром 1 мм) просверливали в черепе в месте расположения структур левого гиппокампа для стимулирующего и регистрирующего электродов. Биполярный стимулирующий электрод; пара скрученных проводов из вольфрама (75 мкм) с наконечниками, отделенными в горизонтальном направлении на расстоянии 0,125 мкм друг от друга, располагали на пути коллатералей Шаффера коммисуральных нервных волокон (SC) (AP -3,4, ML -2,5, DV -1,9-2,4), и

регистрирующий электрод из вольфрама располагали в Stratum Radiatum области Cornu Ammonis (CA1) дорсальной части гиппокампа (AP -4,2, ML -4,0, DV -2,5-3,4) (фиг. 16a). Твердую оболочку головного мозга прокалывали через оба отверстия и стимулирующий и регистрирующий электроды опускали очень медленно (0,2 мм/мин) через кору головного мозга и верхние слои гиппокампа в mPP и DG дорсального отдела гиппокампа. В ходе хирургического вмешательства прилагали все усилия, чтобы минимизировать страдание животного.

Наклон полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP) использовали в качестве меры возбуждающей синаптической передачи. Одиночные монофазные прямоугольные импульсы длительностью 0,1 или 0,2 мс, генерируемые блоком питания постоянного тока (МС, Германия), применяли, например, по отношению к SC и вызванные ответы возникали в CA1. Сигналы внеклеточного полевого потенциала усиливали; фильтровали с помощью фильтра с полосой пропускания от 1 Гц до 2 кГц, преобразовывали в цифровую форму и осуществляли анализ с помощью заказного программного обеспечения. Электроды опускали до тех пор, пока не наблюдали отрицательное отклонение fEPSP с максимальным ответом. Для обеспечения стабилизации возбудимости перед измерениями предоставлялось не менее 30 мин. Затем подавали монофазные импульсы постоянного тока при значениях интенсивности стимула в диапазоне от 1 до 12 В для получения кривых ввода/вывода (I/O) и определения максимальных значений наклона fEPSP, и затем интенсивность стимула, которая обеспечивала 50% от максимального ответа (т.е. контрольный импульс), применяли в следующих экспериментах.

Индукция LTP.

После определения кривых I/O затем применяли тестовую стимуляцию каждые 30 с до и после тетанической стимуляции. Для каждой временной точки, для которой проводились измерения во время экспериментов, усредняли пять зарегистрированных значений вызванных ответов при частоте 0,033 Гц. Исходный уровень активности измеряли каждые 5 мин в течение по меньшей мере 1 ч для обеспечения устойчивого исходного уровня. Последние 30 мин регистрации исходного уровня (6 моментов времени) непосредственно после применения лекарственного средства усредняли и применяли в качестве контроля для индукции LTP. Тетанизацию индуцировали с помощью протокола высокочастотной стимуляции (HFS) 200-Гц, состоящего из прямоугольных импульсов (продолжительность стимула 0,2 мс, 10 импульсов для 20 стимулов, интервал между импульсами 2 с), при интенсивности стимула, который вызывал получение наклона fEPSP, который составлял примерно 50% от максимального ответа. fEPSP регистрировали в течение 120 мин после HFS для определения возможных изменений в синаптическом ответе нейронов SC-CA1. Измерения LTP получали из соотношений полевого EPSP из нормализованного среднего наклона, полученного через 120 мин после HFS, деленного на нормализованный средний наклон, собранный за 30 мин перед HFS. Наклон предполагаемого fEPSP измеряли от окончания артефакта, вызванного стимулом, и до минимальной точки отрицательного пика. В 80% интервале между этими точками применяли анализ с применением линейного приближения с помощью метода наименьших квадратов для расчета наклона EPSP.

Гистология.

В конце электрофизиологического исследования проводили электрическую стимуляцию с силой тока 500 мкА в течение 30 с с получением очага поражения в зоне наконечников стимулирующего и регистрирующего электродов и головные мозги собирали для гистологического подтверждения правильности размещения электродов. Срезы головного мозга (20 мкм) изучали с помощью светового микроскопа. Животных с неправильным размещением электродов исключали из исследования.

Соединение 110 растворяли в 20% циклодекстрине (CD) + 1NCl. Для подкожного введения соединение 110 растворяли в 20% CD + 1NCl с достижением конечных концентраций 2 и 4 мг/мл.

Статистический анализ.

Для каждого животного стабильные ответы на исходном уровне (до тетануса) в течение 30 мин усредняли и среднее значение нормализовали, принимая за 100%, и данные ответа после тетануса выражали относительно среднего значения на исходном уровне. Сравнение эффектов среды-носителя и соединения 110 после тетануса проводили в интервалах 30 мин с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), и применяли апостериорный анализ наименьшего значимого отличия (LSD) для групповых сравнений.

Результаты.

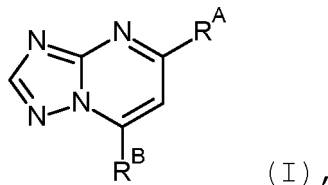
В наклоне fEPSP пути SC-CA1 среди I/O исследуемых групп различий обнаружено не было, что дает основания предполагать, что возбудимость клеток CA1 являлась сходной у всех животных (фиг. 16b, c). Базальная синаптическая передача усиливалась, поскольку были обнаружены значительные изменения при сравнении соединения 110 (20 и 40 мг/кг) и контроля, обработанного средой-носителем во время исходного уровня до тетануса (+8 и 9% соответственно) (фиг. 16d, e). В рамках парадигмы индукции LTP подкожное введение соединения 110 (20 и 40 мг/кг) повышало устойчивую (>2 ч.) синаптическую потенциацию ($137 \pm 8\%$ и $142 \pm 5\%$ по сравнению с уровнем для среды-носителя $119 \pm 4\%$ соответственно) (фиг. 16d, диаграмма на вставке). Через 0-30 мин после завершения тетанизации наклоны fEPSP составляли $153 \pm 5\%$ и $155 \pm 4\%$ по сравнению с уровнем для среды-носителя, составляющим $139 \pm 1\%$, $p < 0,05$). В по-

следующих интервалах 30 мин анализ кривых стимул-ответ выявил значительное устойчивое увеличение в fEPSP при дозе 40 мг/кг (30-60 мин: $146 \pm 6\%$, 60-90 мин: $137 \pm 5\%$ и 90-120 мин: $129 \pm 5\%$ по сравнению с уровнем для среды-носителя 125 ± 6 , 116 ± 9 и $106 \pm 13\%$, $p < 0,05$ соответственно). В целом соединение 110 способствует базальной синаптической передаче и LTP in vivo.

Допустимые варианты не следует рассматривать как отклонение от объема настоящего изобретения. Будет очевидно, что специалисты в данной области техники могут изменять описанное таким образом изобретение различными способами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

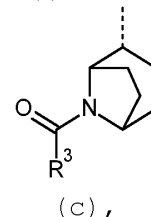
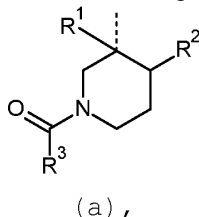
1. Соединение, характеризующееся формулой (I),



или его стереоизомерная форма, где

R^A выбран из группы, состоящей из H, CH_3 , CN и CHF_2 ;

R^B представляет собой радикал, выбранный из группы, состоящей из (a) и (c)



где

R^1 представляет собой H, F или CH_3 ;

R^2 представляет собой H, метил или н-бутил; при условии, что если R^2 представляет собой H, то R^1 представляет собой F или CH_3 ;

R^3 представляет собой Ar, Het или $Ar-C_{2-4}$ алкенил; где

Ar представляет собой фенил или нафтил, каждый из которых необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; CN; $NR^{2A}R^{2B}$, где каждый из R^{2A} и R^{2B} независимо выбран из H и CH_3 ; OH; C_{1-6} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{1-6} алкила, замещенного CN; C_{3-6} циклоалкила; C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и пирозолила;

Het представляет собой:

(i) 5-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1H-пирролила; тиенила; фуридила; 1H-пиразолила; 1H-имидазолила; 1,2-оксазолила; 1,3-оксазолила и тиазолила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2, или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; $NR^{3A}R^{3B}$, где каждый из R^{3A} и R^{3B} независимо выбран из H и CH_3 ; и фуран-2-ила; или

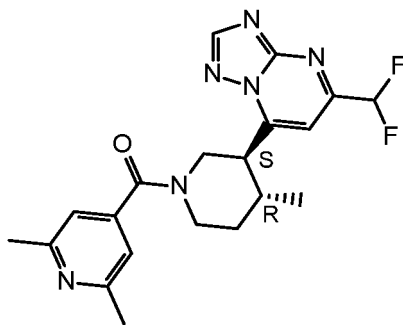
(ii) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиазиринила и пиадазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $NR^{4A}R^{4B}$, где каждый из R^{4A} и R^{4B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{1-4} алкила, замещенного OH; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси; C_{1-4} алкилокси; и C_{1-4} алкилокси C_{1-4} алкила; или

(iii) 8-10-членный бициклический частично ненасыщенный гетероцикл, выбранный из группы, состоящей из 2,3-дигидро-1-бензофуридила; 2H-хроменила; 3,4-дигидро-2H-хроменила; 2,3-дигидро-1H-индолила, необязательно замещенного в положении 1 1-ацетилом; 2,2-дифтор-1,3-бензодиоксила; 1,3-бензодиоксила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой метил; 3,4-дигидро-2H-1,4-бензоксазинила, необязательно замещенного C_{1-4} алкилом; 5,6,7,8-тетрагидроимидазо [1,2-a]пиридинила; 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой атом галогена; и 2,3-дигидропиразоло[5,1-b][1,3]оксазолила; или

(iv) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуридила; 1-бензотиофенила; 1H-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1H-бензимидазолила; имидазо[1,2-a]пиридинила; пиразоло[1,5-a]пиридинила; 1H-тиено[2,3-c]пиразолила; имидазо[2,1-b]тиазолила; пирроло[2,3-c]пиридинила; тиено[3,2-b]пиридинила; хинолини-

ла; изохинолинила; хиноксалинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; $\text{NR}^{5A}\text{R}^{5B}$, где каждый из R^{5A} и R^{5B} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси;

при условии, что соединение не является



или его N-оксид, или фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, где

R^3 представляет собой Ag или Het; где

Ag представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; CN; OH; C_{1-6} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{1-6} алкила, замещенного CN; C_{3-6} циклоалкила и C_{1-6} алкилокси, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена;

Het представляет собой:

(i) 5-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1H-пирролила; тиенила; фуридила; 1H-пиразолила; 1H-имидазолила; 1,2-оксазолила; 1,3-оксазолила и тиазолила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2, или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; $\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$, где каждый из R^{3a} и R^{3b} независимо выбран из H и CH_3 ; и фуран-2-ила; или

(ii) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиразинила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $\text{NR}^{4a}\text{R}^{4b}$, где каждый из R^{4a} и R^{4b} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила; C_{3-6} циклоалкилокси и C_{1-4} алкилокси; или

(iii) 8-10-членный бициклический частично ненасыщенный гетероцикл, выбранный из группы, состоящей из 2,3-дигидро-1-бензофуридила; 2H-хроменила; 3,4-дигидро-2H-хроменила; 2,3-дигидро-1H-индолила, необязательно замещенного в положении 1 1-ацетил; 2,2-дифтор-1,3-бензодиоксолила; 1,3-бензодиоксолила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой метил; 5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-a]пиридинила; 5,6,7,8-тетрагидрохинолинила, необязательно замещенного заместителем, представляющим собой атом галогена; и 2,3-дигидропиразоло[5,1-b][1,3]оксазолила; или

(iv) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофуридила; 1-бензотиофенила; 1H-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1H-бензимидазолила; имидазо[1,2-a]пиридинила; пиразоло[1,5-a]пиридинила; 1H-тиено[2,3-c]пиразолила; тиено[3,2-b]пиридинила; хинолинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; $\text{NR}^{5a}\text{R}^{5b}$, где каждый из R^{5a} и R^{5b} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и C_{1-4} алкилокси;

или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение по п.1 или 2, где R^A представляет собой CH_3 или CHF_2 .

4. Соединение по любому из пп.1-3, где R^3 представляет собой Het.

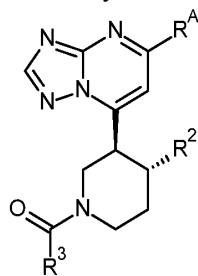
5. Соединение по любому из пп.1-4, где R^3 представляет собой:

(i) 6-членный гетероарил, выбранный из группы, состоящей из пиридила, пиримидинила, пиразинила и пиридазинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; CN; $\text{NR}^{4a}\text{R}^{4b}$, где каждый из R^{4a} и R^{4b} независимо выбран из H и CH_3 ; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; C_{3-6} циклоалкила;

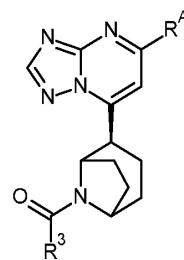
С₃₋₆циклоалкилокси и С₁₋₄алкилокси; или

(ii) 9-10-членный бициклический гетероарил, выбранный из группы, состоящей из 1-бензофурила; 1-бензотиофенила; 1Н-индолила; 1,3-бензоксазолила; 1,3-бензотиазолила; индолизинила; 1Н-бензимидазолила; имидазо[1,2-а]пиридинила; пиразоло[1,5-а]пиридинила; 1Н-тиено[2,3-с]пирозолила; тиено[3,2-б]пиридинила; хиолинила; 1,8-нафтиридинила и 1,6-нафтиридинила; каждый из которых может быть необязательно замещен 1 или 2 заместителями, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из галогена; OH; NR^{5a}R^{5b}, где каждый из R^{5a} и R^{5b} независимо выбран из H и CH₃; С₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 независимо выбранными заместителями, представляющими собой атом галогена; и С₁₋₄алкилокси.

6. Соединение по любому из пп. 1-5, характеризующееся формулой (I-a) или (I-c),



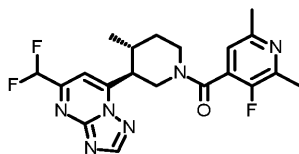
(I-a),



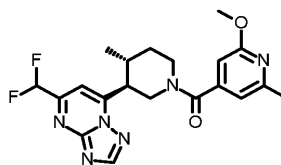
(I-c),

где R^A, R² и R³ определены в любом из пп. 1-5.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, где соединение представляет собой



ИЛИ



8. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп. 1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

9. Применение соединения по любому из пп. 1-7 в качестве лекарственного препарата для лечения или предупреждения расстройства центральной нервной системы.

10. Применение соединения по любому из пп. 1-7 для лечения или предупреждения расстройства центральной нервной системы, выбранного из болезни Альцгеймера; инсульта; нарушения обучаемости; расстройства или состояния, включающего в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; легкого когнитивного нарушения; возрастного когнитивного нарушения; когнитивного нарушения, связанного с восприятием, вниманием, обучением или памятью; и нарушений памяти.

11. Применение по п. 10, где расстройство центральной нервной системы представляет собой болезнь Альцгеймера.

12. Способ получения фармацевтической композиции по п. 8, отличающийся тем, что фармацевтически приемлемый носитель тщательно смешивают с терапевтически эффективным количеством соединения по пп. 1-7.

13. Применение соединения по любому из пп. 1-7 в комбинации с дополнительным фармацевтическим средством для лечения или предупреждения состояния, приведенного в любом из пп. 10, 11.

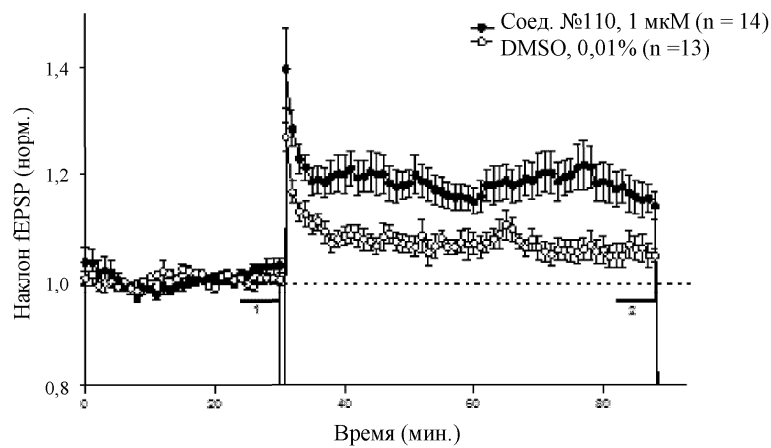
14. Продукт, содержащий:

(a) соединение по любому из пп. 1-7 и

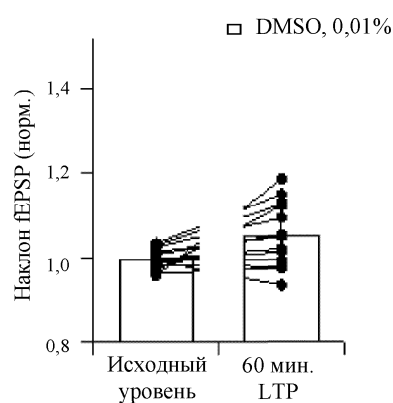
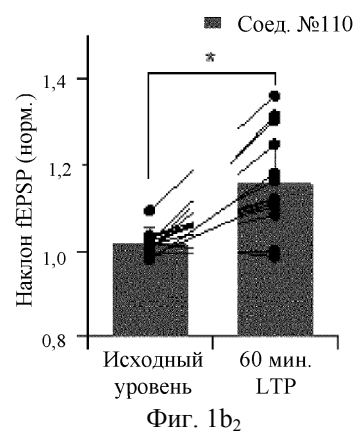
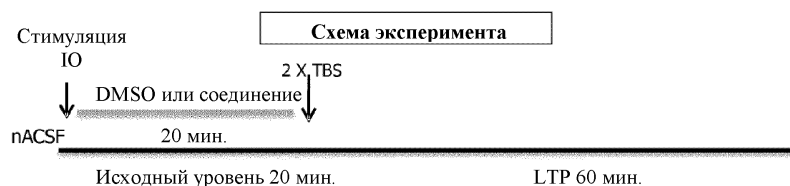
(b) дополнительное фармацевтическое средство

в виде комбинированного препарата для одновременного, раздельного или последовательного применения в лечении или предупреждении состояния, приведенного в любом из пп. 10, 11.

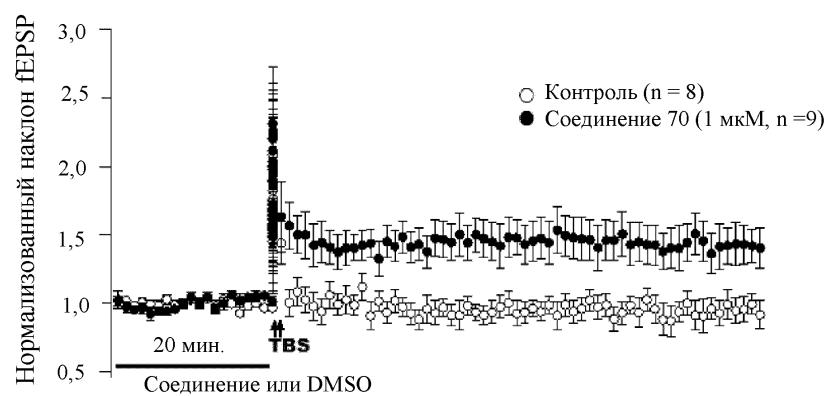
15. Способ лечения расстройства, выбранного из болезни Альцгеймера; инсульта; нарушения обучаемости; расстройства или состояния, включающего в качестве симптома синдром дефицита внимания и/или нарушение познавательной деятельности; легкого когнитивного нарушения; возрастного когнитивного нарушения; когнитивного нарушения, связанного с восприятием, вниманием, обучением или памятью; и нарушений памяти, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-7.



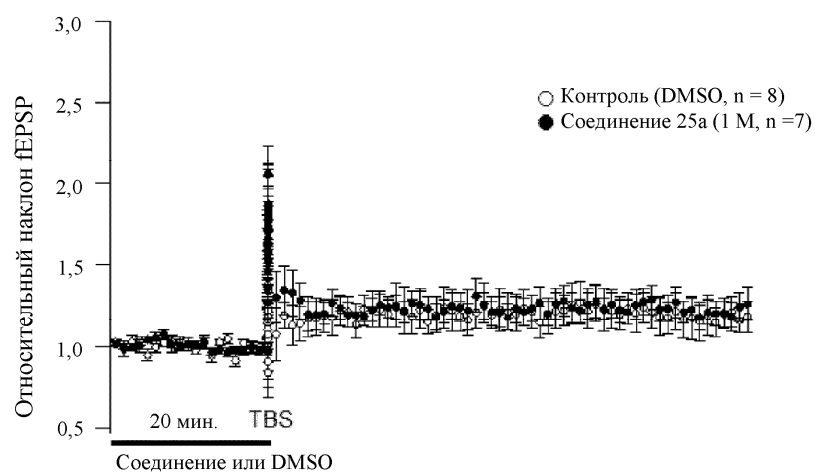
Фиг. 1a

Фиг. 1b₁Фиг. 1b₂

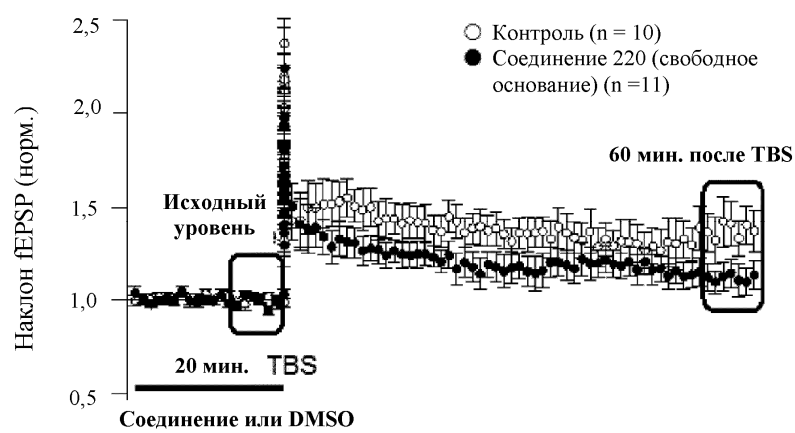
Фиг. 2



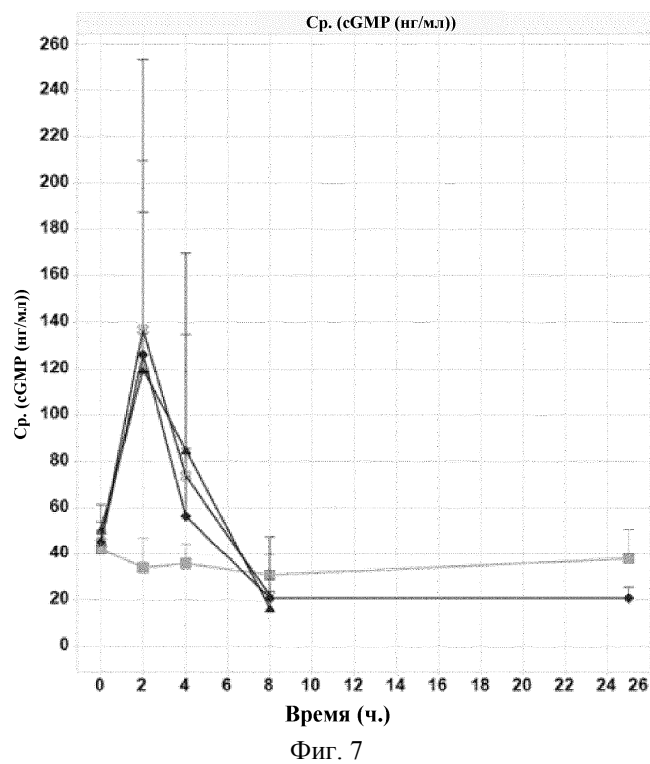
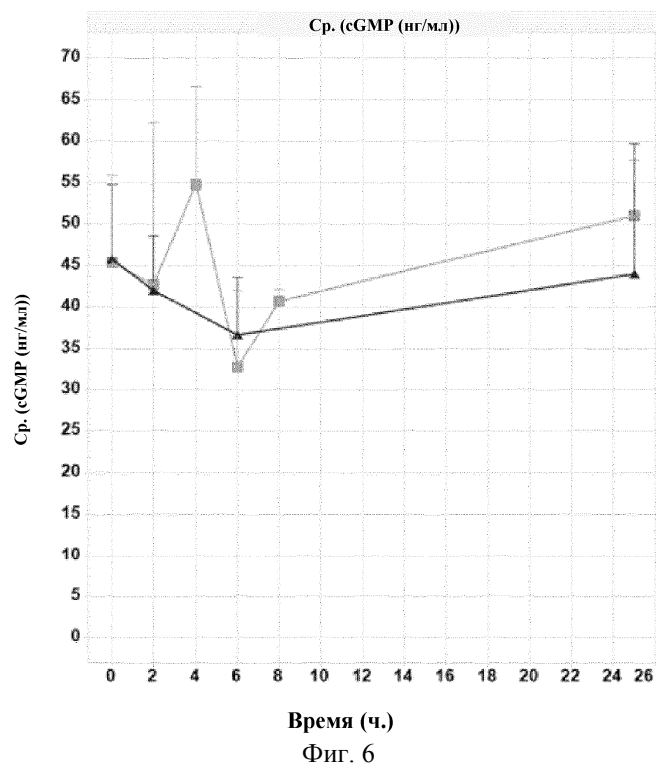
Фиг. 3

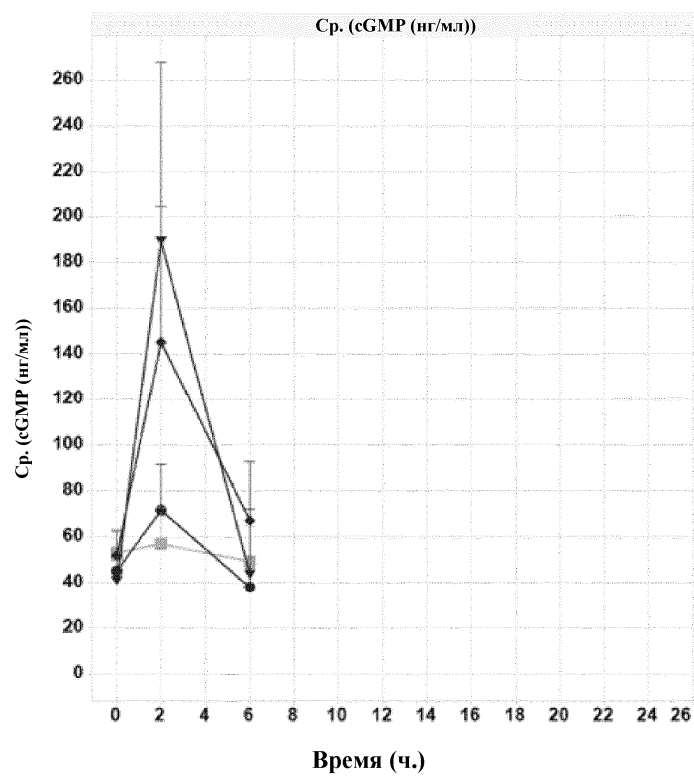


Фиг. 4

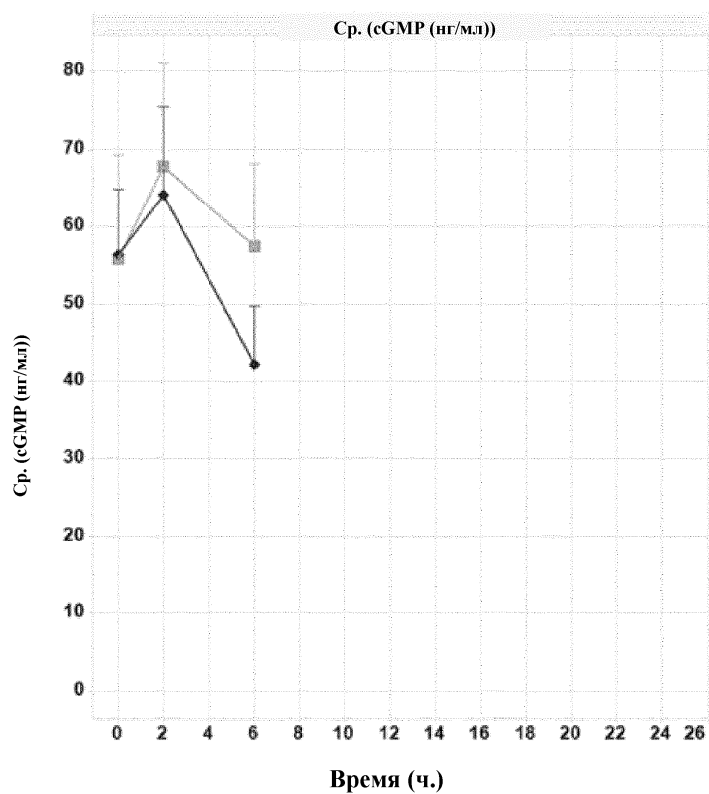


Фиг. 5

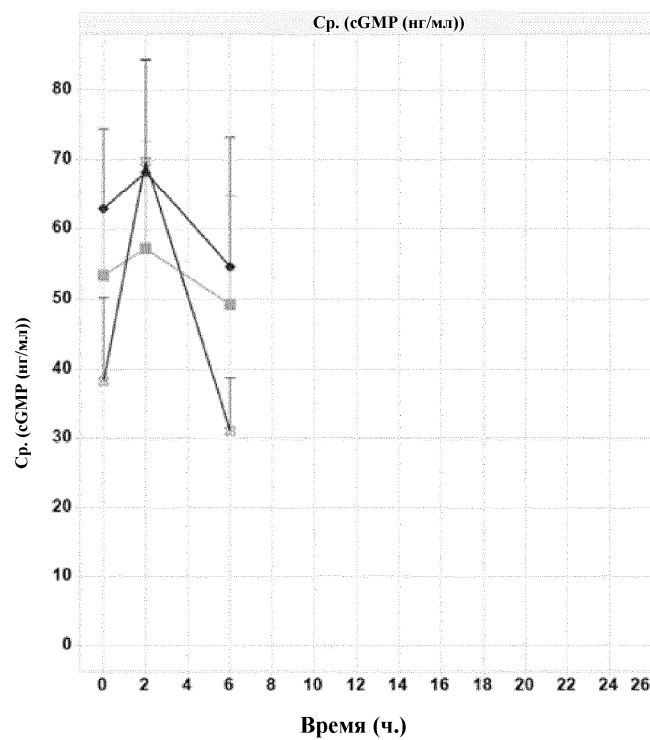




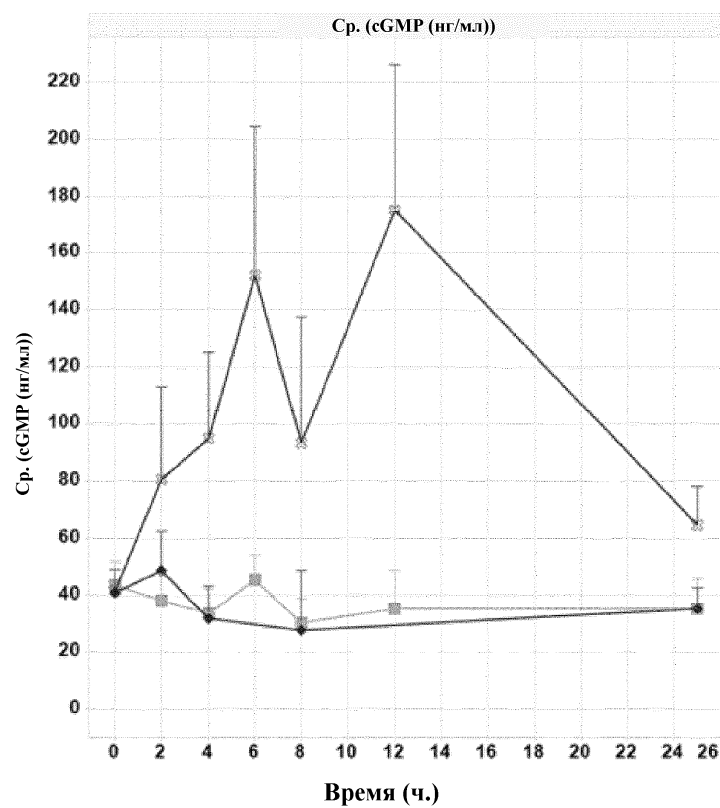
Фиг. 8



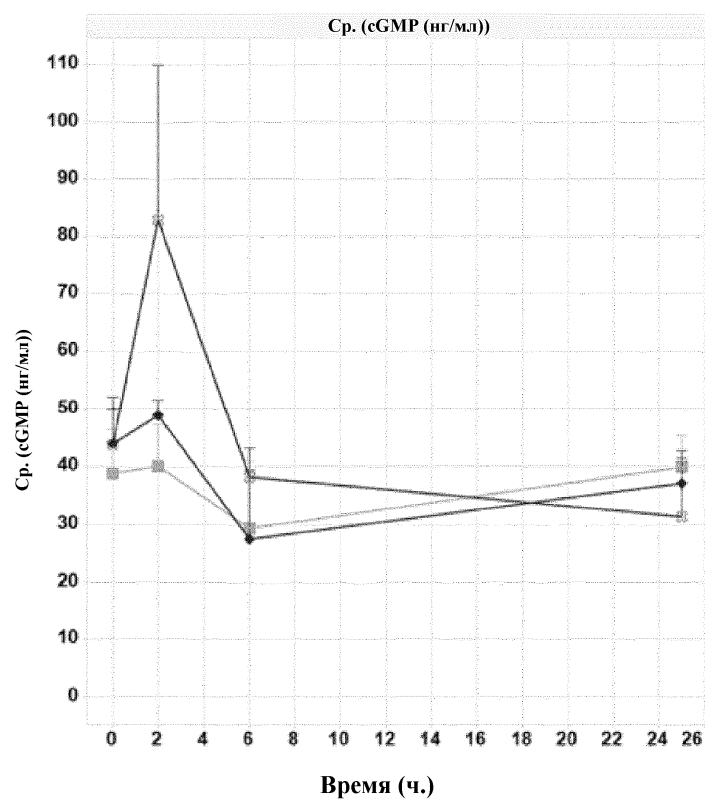
Фиг. 9



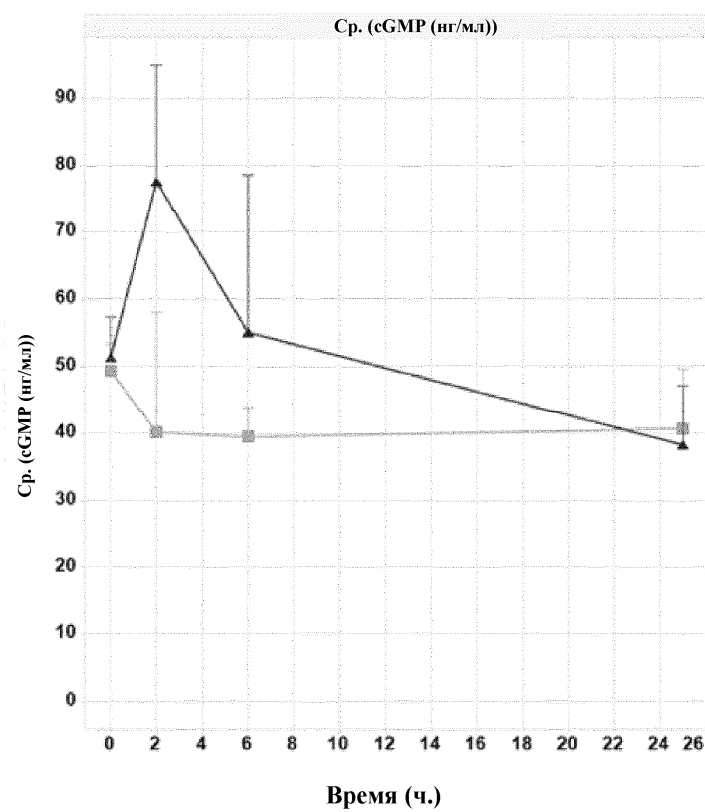
Фиг. 10



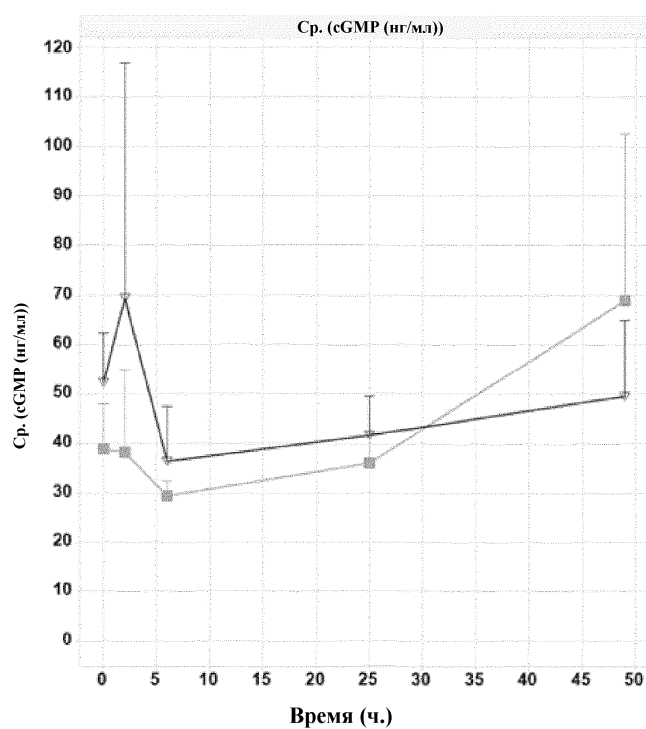
Фиг. 11



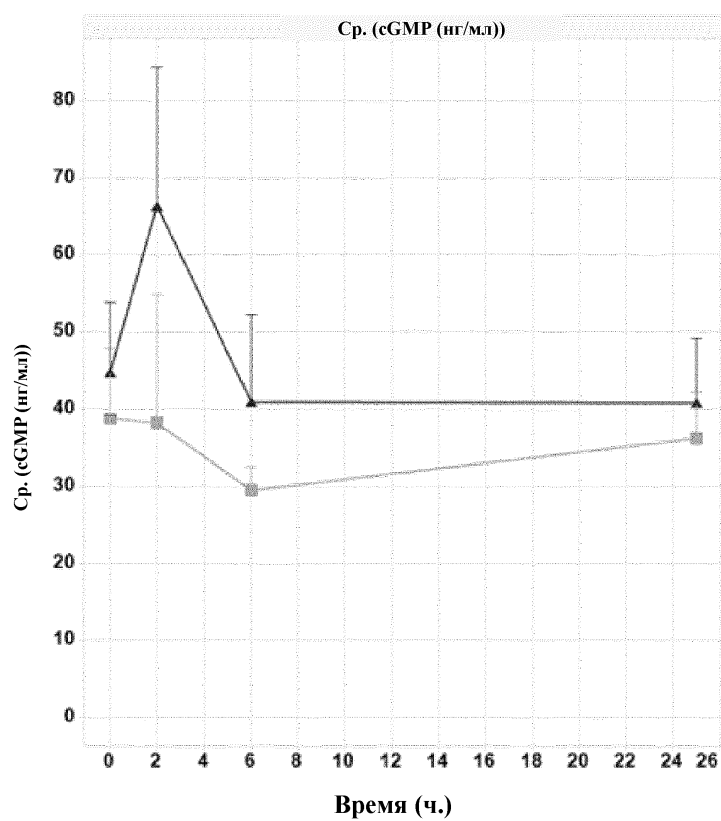
Фиг. 12



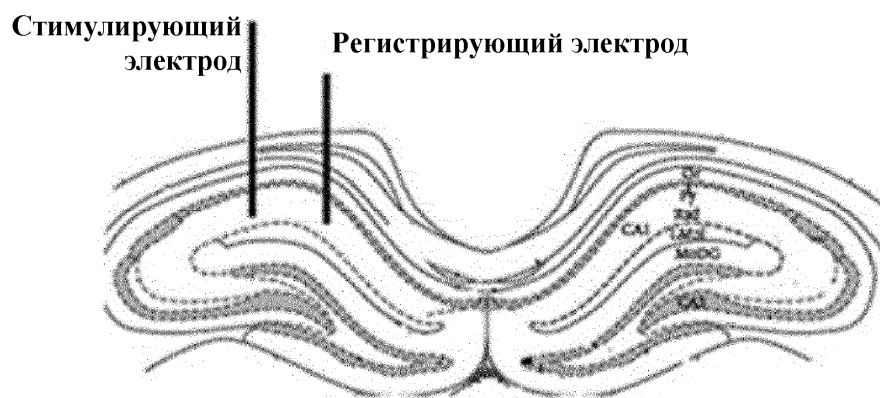
Фиг. 13



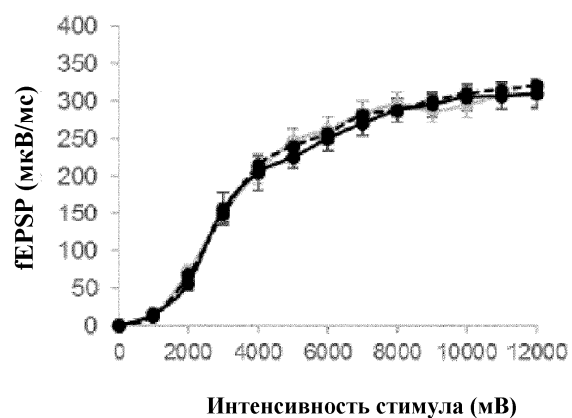
Фиг. 14



Фиг. 15



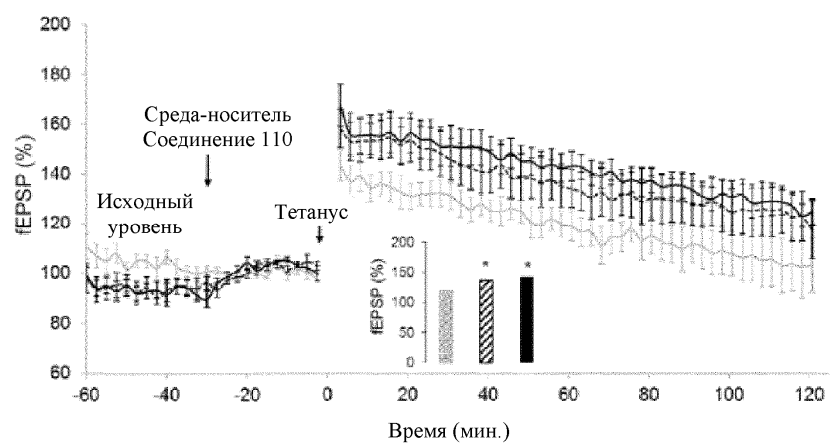
Фиг. 16а



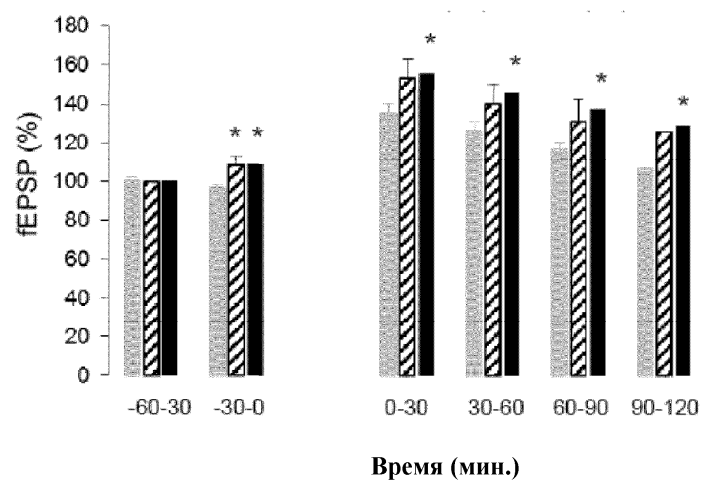
Фиг. 16b



Фиг. 16с



Фиг. 16d



Фиг. 16с

