

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290151** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.07

(51) Int. Cl. *A61K 31/4725* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
C07D 401/06 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.06.29

(54) ЗАМЕЩЕННОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИНА, КАК ПОЗИТИВНЫЙ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ МОДУЛЯТОР D1

(31) **19183641.0**

(32) **2019.07.01**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2020/068181**

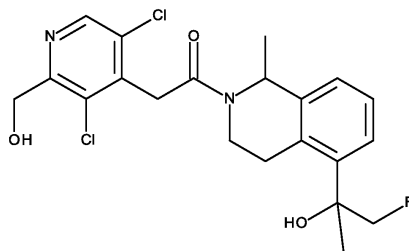
(87) **WO 2021/001286 2021.01.07**

(71) Заявитель:
ЮСБ БАЙОФАРМА СРЛ (BE)

(72) Изобретатель:
Валад Анна (BE)

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Веселицкая И.А.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) В заявке описаны соединения формулы (I)



которые являются позитивными аллостерическими модуляторами D1 и поэтому полезны для применения в качестве фармацевтических средств, предназначенных для лечения заболеваний, в которых играют роль рецепторы D1.

202290151

A1

A1

202290151

ЗАМЕЩЕННОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИНА, КАК ПОЗИТИВНЫЙ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ МОДУЛЯТОР D1

5

Настоящее изобретение относится к производному тетрагидроизохинолина и к его применению в терапии. В частности, настоящее изобретение относится к фармакологически активному замещенному производному тетрагидроизохинолина.

10 Это соединение действует, как позитивный аллостерический модулятор D1, и поэтому полезно для применения в качестве фармацевтического средства, предназначенного для лечения заболеваний, в которых играют роль рецепторы D1.

Относящийся к моноаминам допамин воздействует на GPCR (рецепторы, связанные с G-белком) двух семейств и модулирует двигательную функцию, механизмы, связанные с поощрением, познавательные процессы и другие физиологические функции. В частности, допамин воздействует на нейроны посредством D1-подобных рецепторов, включающих допаминовые рецепторы D1 и D5, которые в основном сопряжены с G-белком G_s , и поэтому стимулируют продуцирование цАМФ (циклический аденозинмонофосфат) посредством D2-подобных рецепторов, которые включают рецепторы D2, D3 и D4, которые сопряжены с G-белками $G_{i/q}$ и которые подавляют продуцирование цАМФ. Эти рецепторы широко экспрессируются в разных областях головного мозга. В частности, рецепторы D1 участвуют во многих физиологических функциях и поведенческих процессах. Так, например, рецепторы D1 участвуют в синаптической пластичности, когнитивной функции и направленных на достижение цели двигательных функциях, а также в процессах, связанных с поощрением. Вследствие их роли в нескольких физиологических/неврологических процессах рецепторы D1 участвуют в различных нарушениях, включая связанные с познавательной способностью и негативные симптомы шизофрении, нарушение познавательной способности, связанное с классическим лечением нейролептическим средством, импульсивность, синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ),

25
30

болезнь Паркинсона и связанные с ней нарушения движений, дистонию, болезнь Гентингтона, слабоумие с тельцами Леви, болезнь Альцгеймера, возрастное ухудшение познавательной способности, слабое нарушение познавательной способности (СНП), привыкание к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушения сна и апатию.

Показано, что затруднительно разработать биологически доступные при пероральном введении малые молекулы, действие которых направлено на рецепторы D1. Разработанные к настоящему времени агонисты D1 характеризуются наличием пирокатехинового фрагмента и поэтому их применение в клинической практике ограничено инвазивным лечением. Также затруднительным оказалось обеспечение достаточной селективности вследствие высокой степени гомологии центров связывания лиганда у подтипов допаминовых рецепторов (например, допаминовых рецепторов D1 и D5). Кроме того, использование агонистов D1 ограничено в связи с возможными побочными эффектами, включая дискинезию и гипотензию.

Поэтому необходимо разработать новые средства, которые могут модулировать рецепторы D1.

Проявлялся больший интерес к идентификации аллостерических модуляторов GPCR, как средств, обеспечивающих понимание механизма действия рецептора, и как возможных терапевтических средств. GPCR представляют собой самое большое семейство рецепторов клеточной поверхности и большое количество имеющихся в продаже лекарственных средств непосредственно активируют или блокируют пути передачи сигналов, опосредуемые этими рецепторами. Однако показано, что для некоторых GPCR (например, пептидных рецепторов) затруднительно разработать малые молекулы или обеспечить достаточную селективность вследствие высокой степени гомологии центров связывания лиганда у подтипов рецептора (например, допаминовых рецепторов D1 и D5 или D2 и D3). Соответственно, направление многих исследований в области лекарственных средств изменилось в сторону идентификации малых молекул, действие которых направлено на центры, отличающиеся от центров воздействия природного ортостерического агониста. Лиганды, которые связываются с этими центрами, индуцируют изменение конформации GPCR и тем самым аллостерически модулируют функцию

рецептора. Аллостерические лиганды обладают самыми различными функциями, включая способность усиливать (позитивный аллостерический модулятор, ПАМ) или ослаблять (негативный аллостерический модулятор, НАМ) воздействие эндогенного лиганда, путем воздействия на его сродство и/или эффективность.

- 5 Кроме селективности к подтипу аллостерические модуляторы могут обладать другими возможными преимуществами с точки зрения разработки лекарственных средств, такими как отсутствие прямого воздействия или собственной эффективности; только усиление воздействия нативного медиатора в том месте и в тот момент времени, в котором он высвобождается; ослабление
- 10 склонности к индуцированию десенсibilизации, возникающей в связи с постоянным воздействием агониста, а также ослабление склонности вызывать связанные с мишенями побочные эффекты.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, усиливают воздействие агонистов D1 или эндогенного лиганда на рецепторы D1 по

15 аллостерическому механизму и поэтому они являются позитивными аллостерическими модуляторами D1 (ПАМ D1).

Поэтому соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, являющееся ПАМ D1, полезно для лечения и/или предупреждения заболеваний и нарушений, в которых играют роль рецепторы D1. Такие заболевания включают связанные с

20 познавательной способностью и негативные симптомы шизофрении, нарушение познавательной способности, связанное с лечением нейролептическим средством, слабое нарушение познавательной способности (СНП), импульсивность, синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезнь Паркинсона и другие нарушения движений, дистонию, слабоумие при

25 болезни Паркинсона, болезнь Гентингтона, слабоумие с тельцами Леви, болезнь Альцгеймера, привыкание к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушения сна, апатию, травматическое повреждение спинного мозга или невропатическую боль.

В заявке на международный патент WO 2013/051869 A1 раскрыты

30 некоторые производные 3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ила, которые являются антагонистами NK2.

В заявке на международный патент WO 2008/109336 A1 раскрыты некоторые соединения тетрагидроизохинолина, которые являются модуляторами гистаминовых рецепторов H3.

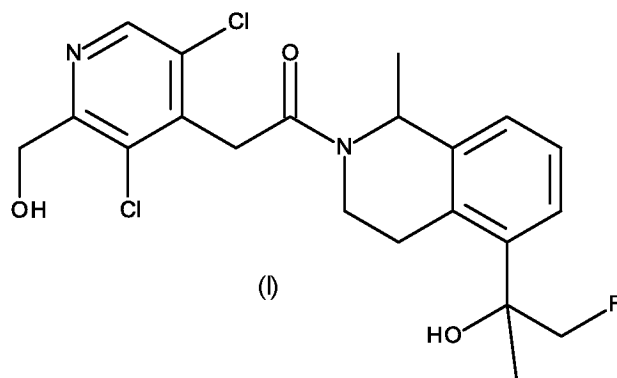
5 В заявке на международный патент WO 2014/193781 A1 раскрыты некоторые производные 3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ила, применимые для лечения нарушения познавательной способности, связанной с болезнью Паркинсона или шизофренией.

10 В заявке на международный патент WO 2016/055479 раскрыты замещенные производные 3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-ила и его аналоги, которые могут быть применимы для лечения заболеваний, в которых играют роль рецепторы D1.

15 В заявке на международный патент WO 2019/204418 раскрыты некоторые производные пиразотетрагидроизохинолинов, которые являются позитивными аллостерическими модуляторами D1, и могут быть применимы для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера, шизофрении и синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ).

20 Однако сохраняется необходимость разработки активных позитивных аллостерических модуляторов D1, которые обладают комбинацией благоприятных фармакокинетических и фармакодинамических характеристик, и при этом обеспечивают уменьшение побочных эффектов, обычно связанных с лечением, включающим использование селективных агонистов D1, таких как, например, нарушения движений или познавательной способности.

25 Настоящее изобретение относится к 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[5-[2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этенону формулы (I),



или его фармацевтически приемлемой соли.

Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, входит в родовой объем находящейся одновременно на рассмотрении заявке на международный патент WO 2016/055479. Однако в указанной заявке отсутствует конкретное раскрытие соединения формулы (I), представленной выше, или его

5 фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли, предназначенной для применения в терапии.

Другим объектом настоящего изобретения является соединение формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемая соль, предназначенная для применения для лечения и/или предупреждения заболеваний и/или нарушений, в которых играют роль рецепторы D1.

Другим объектом настоящего изобретения является соединение формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемая соль, предназначенная для применения для лечения и/или предупреждения связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, нарушения познавательной способности, связанного с лечением нейролептическим средством, слабого нарушения познавательной способности (СНП), импульсивности, синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезни Паркинсона и других нарушений движений, дистонии, слабоумия при болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, слабоумия с тельцами Леви, болезни Альцгеймера, привыкания к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушений сна, апатии, травматического повреждения спинного мозга или невропатической боли.

В предпочтительном варианте осуществления этого объекта настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли, предназначенной для применения для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера или связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении.

Поэтому одним предпочтительным объектом настоящего изобретения является соединение формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически

приемлемая соль, предназначенная для применения для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений.

Другим объектом настоящего изобретения является применение соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства, применимого для лечения и/или предупреждения заболеваний и/или нарушений, в которых играют роль рецепторы D1.

Еще одним объектом настоящего изобретения является применение соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства, применимого для лечения и/или предупреждения связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, нарушения познавательной способности, связанного с лечением нейролептическим средством, слабого нарушения познавательной способности (СНП), импульсивности, синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезни Паркинсона и других нарушений движений, дистонии, слабоумия при болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, слабоумия с тельцами Леви, болезни Альцгеймера, привыкания к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушений сна, апатии, травматического повреждения спинного мозга или невропатической боли.

В предпочтительном варианте осуществления этого объекта настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства, применимого для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера или связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении.

Одним предпочтительным объектом настоящего изобретения является применение соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства, применимого для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения и/или предупреждения нарушений, для которых показано введение позитивного аллостерического модулятора D1, который включает введение пациенту,

нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

Другим объектом настоящего изобретения является способ лечения и/или предупреждения связанных с познавательной способностью и негативных
5 симптомов шизофрении, нарушения познавательной способности, связанного с лечением нейролептическим средством, слабого нарушения познавательной способности (СНП), импульсивности, синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезни Паркинсона и других нарушений движений, дистонии, слабоумия при болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, слабоумия
10 с тельцами Леви, болезни Альцгеймера, привыкания к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушений сна, апатии, травматического повреждения спинного мозга или невропатической боли, который включает введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически
15 приемлемой соли в эффективном количестве.

В предпочтительном варианте осуществления этого объекта настоящее изобретение относится к способу лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера или связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, который включает
20 введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

Одним предпочтительным объектом настоящего изобретения является способ лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, который
25 включает введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I), определенной выше, или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

В объем настоящего изобретения входят соли соединений формулы (I), приведенной выше. Для применения в медицине соли соединений формулы (I)
30 должны являться фармацевтически приемлемыми солями. Однако для получения соединений, применимых в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемых солей можно использовать другие соли. Стандартные принципы, лежащие в основе выбора и получения фармацевтически приемлемых солей

описаны, например, в публикации *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, ed. P.H. Stahl & C.G. Wermuth, Wiley-VCH, 2002. Подходящие фармацевтически приемлемые соли соединения формулы (I) включают соли присоединения с кислотами, которые, например, можно приготовить путем смешивания раствора соединения формулы (I) с раствором фармацевтически приемлемой кислоты.

Следует понимать, что каждый отдельный атом, содержащийся в формуле (I), или в формулах, представленных ниже в настоящем изобретении, в действительности может содержаться в форме любого из его изотопов, встречающихся в природе, причем наиболее часто встречающийся изотоп (изотопы) является предпочтительным. Так, например, каждый отдельный атом водорода, содержащийся в формуле (I), или в формулах, представленных ниже в настоящем изобретении, может содержаться в виде атома ^1H , ^2H (дейтерий) или ^3H (тритий), предпочтительно в виде ^1H или ^2H . Аналогичным образом, например, каждый отдельный атом углерода, содержащийся в формуле (I), или в формулах, представленных ниже в настоящем изобретении, может содержаться в виде атома ^{12}C , ^{13}C или ^{14}C , предпочтительно в виде ^{12}C .

В объем настоящего изобретения входят сольваты соединений формулы (I), приведенной выше. Такие сольваты можно получить с обычными органическими растворителями или с водой.

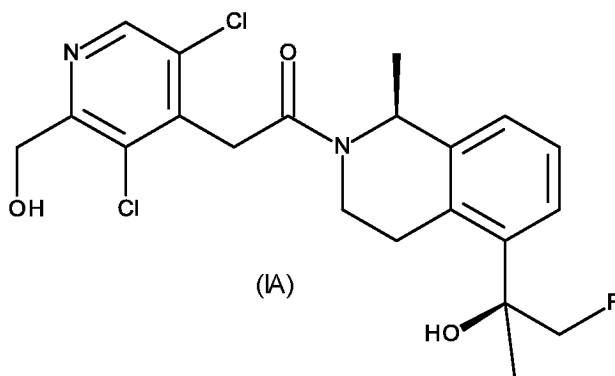
В объем настоящего изобретения также входят совместные кристаллы соединений формулы (I), приведенной выше. Технический термин "совместный кристалл" используют для описания случая, когда нейтральные молекулярные компоненты содержатся в кристаллическом соединении при определенном стехиометрическом соотношении. Получение фармацевтических совместных кристаллов позволяет модифицировать кристаллическую форму активного фармацевтического ингредиента, что, в свою очередь, может изменить его физико-химические характеристики без ухудшения его необходимой биологической активности (см. публикацию *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*, ed. J. Wouters & L. Quere, RSC Publishing, 2012).

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут находиться в различных полиморфных формах. Хотя это явно не указано в приведенной выше формуле, такие формы входят в объем настоящего изобретения.

В объем настоящего изобретения также входят пролекарственные формы соединений формулы (I) и различные их подклассы и подгруппы.

Соединение формулы (I) содержит 2 асимметрических центра и поэтому может существовать в виде диастереоизомеров. Следует понимать, что настоящее изобретение включает применение всех таких диастереоизомеров и их смесей в любом соотношении. Поэтому формула (I) предназначена для описания всех отдельных стереоизомеров и всех их возможных смесей, если не указано или не представлено иное.

Предпочтительным объектом настоящего изобретения является 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этенон формулы (IA),



или его фармацевтически приемлемая соль.

Активность при любом из указанных выше терапевтических показаний или нарушений, разумеется, можно оценить путем проведения соответствующих клинических исследований по методикам, известным специалисту в соответствующей области техники применительно к конкретному показанию и/или при проведении общих клинических исследований.

Для лечения заболеваний соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли можно использовать в эффективной суточной дозе и вводить в форме фармацевтической композиции.

Поэтому настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), представленной выше, или его фармацевтически приемлемую соль совместно с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых носителей.

Для приготовления фармацевтической композиции, предлагаемой в настоящем изобретении, одно или большее количество соединений формулы (I)

или их фармацевтически приемлемых солей тщательно смешивают с фармацевтическим разбавителем или носителем по обычным фармацевтическим методикам приготовления смесей, известным опытным специалистам-практикам.

5 Подходящие разбавители и носители могут находиться в самых различных формах в зависимости от необходимого пути введения, например, перорального, ректального, парентерального или назального.

10 Фармацевтические композиции, содержащие соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно, вводить, например, перорально, парентерально, т. е. внутривенно, внутримышечно или подкожно, внутриоболочечно, путем ингаляции или назально.

Фармацевтические композиции, подходящие для перорального введения, могут быть твердыми или жидкими и могут, например, находиться в форме таблеток, пилюль, драже, желатиновых капсул, растворов, сиропов, жевательных резинок и т. п.

15 Для этого активный ингредиент можно смешать с инертным разбавителем или нетоксичным фармацевтически приемлемым носителем, таким как крахмал или лактоза. Эти фармацевтические композиции также необязательно могут содержать связующее, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, смазывающее вещество, такое как стеарат магния, агент, придающий
20 скользкость, такое как коллоидный диоксид кремния, подсластитель, такой как сахароза или сахарин, или окрашивающие агенты, или вкусовую добавку, такую как экстракт мяты перечной или метилсалицилат.

В объем настоящего изобретения также входят композиции, которые могут
25 высвободить активное вещество регулируемым образом. Фармацевтические композиции, которые можно использовать для парентерального введения, находятся в обычной форме, такой как водные или масляные растворы или суспензии, обычно содержащиеся в ампулах, одноразовых шприцах, стеклянных или пластмассовых флаконах или контейнерах для вливания.

30 В дополнение к активному ингредиенту эти растворы или суспензии также необязательно могут содержать стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители, бактерицидные

средства, такие как бензиловый спирт, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия, хелатные реагенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота, буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и агенты для регулирования осмоляльности, такие как хлорид натрия или декстроза.

Эти фармацевтические формы готовят по методикам, которые стандартным образом используются фармацевтами.

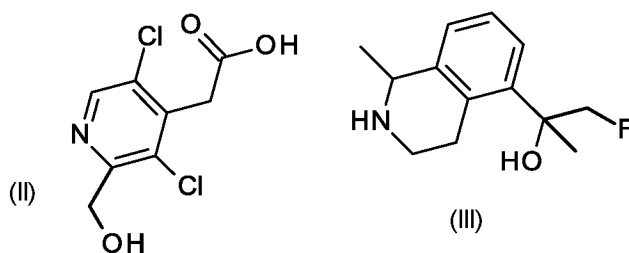
Количество соединения, предназначенного для применения в настоящем изобретении, необходимое для профилактики или лечения конкретного патологического состояния, будет меняться в зависимости от выбранного соединения и состояния подвергающегося лечению пациента. Однако обычно суточная доза может находиться в диапазоне от 0,05 до 3000 мг, обычно от 0,5 до 1000 мг для композиций, предназначенных для парентерального введения.

Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить по отдельности (монотерапия) или в комбинации с L-допа (комбинированная терапия). При введении по отдельности или в комбинации с долями доз L-допа, необходимыми для уменьшения недостатка двигательной способности у пациентов, соединения формулы (I), предлагаемые в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемые соли, могут быть применимы для лечения дискинезии, связанной с введением L-допа. Так, например, полагают, что, если соединение формулы (I), предлагаемое в настоящем изобретении, применяют с долями доз L-допа, вводимыми пациенту, или его применяют отдельно для замены L-допа, то соединение формулы (I), предлагаемое в настоящем изобретении, будет являться эффективным для устранения недостатка двигательной способности и не будет вызывать опасную дискинезию. Поэтому полагают, что соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, может быть применимым для лечения недостатков двигательной способности и вызванной леводопой дискинезии (ВЛД).

Поэтому одним предпочтительным объектом настоящего изобретения также является соединение формулы (I), которое применимо для лечения вызванной леводопой дискинезии (ВЛД).

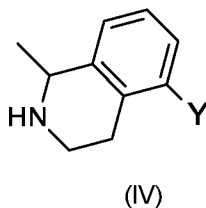
Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить по отдельности или в комбинации с другим фармацевтически активным ингредиентом.

5 Соединение формулы (I) можно получить по методике, включающей реакцию промежуточного продукта формулы (II) с промежуточным продуктом формулы (III).



10 Затем гидрохлорид промежуточного продукта (III) вводят в реакцию с промежуточным продуктом формулы (II) в присутствии 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуронийгексафторфосфата (HBTU) или другого реагента реакции сочетания, известного специалисту в данной области техники, в подходящем растворителе, например, в диметилформамиде, с использованием избыточного количества основания, например, N,N-диизопропилэтиламина.

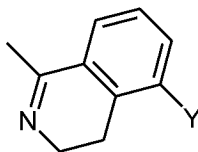
15 Промежуточные продукты формулы (III) можно получить по методике, включающей реакцию промежуточного продукта формулы (IV), в которой Y обозначает галоген, например, бром, с имеющимся в продаже фторацетоном.



20 Реакцию обычно проводят путем обмена металл-галоген, например, в присутствии n-BuLi в подходящем растворителе, например, в тетрагидрофуране, при низкой температуре по методикам, известным специалисту в данной области техники.

25 При проведении указанных выше реакций до введения промежуточных продуктов формулы (III) и (IV) в реакцию с другими реагентами содержащуюся в них аминогруппу обычно сначала защищают с помощью соответствующей защитной группы, например, трет-бутоксикарбонильной группы, по методикам, известным специалисту в данной области техники.

Промежуточные продукты формулы (IIIa) можно получить по методике, включающей реакцию промежуточного продукта формулы (V),

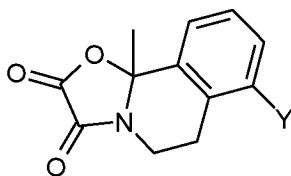


(V)

в которой Y является таким, как определено выше в настоящем изобретении.

5 Реакцию обычно проводят в присутствии подходящего восстановительного реагента, например, борогидрида натрия, в подходящем растворителе, например, в этаноле, при низкой температуре, по методикам, известным специалисту в данной области техники.

10 Промежуточные продукты формулы (V) можно получить по методике, включающей реакцию промежуточного продукта формулы (VI),

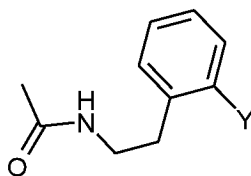


(VI)

в которой Y является таким, как определено выше в настоящем изобретении.

Реакцию обычно проводят в присутствии серной кислоты в подходящем растворителе, например, в метаноле, при комнатной температуре.

15 Промежуточный продукт формулы (VI) можно получить по методике, включающей реакцию имеющегося в продаже промежуточного продукта (VII),

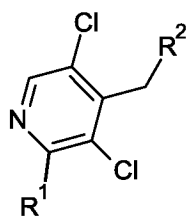


(VII)

в котором Y является таким, как определено выше в настоящем изобретении.

20 Реакцию обычно проводят в присутствии оксалилхлорида в подходящем растворителе, например, в дихлорметане, при низкой температуре с последующим добавлением хлорида железа(III), проводимом при комнатной температуре.

Промежуточный продукт формулы (II) можно получить по многостадийной методике, включающей реакцию промежуточных продуктов, описываемых формулой (VIII),



(VIII)

5 в которой

R¹ обозначает водород, -CH₂OH, -COOR^a или Y, определенный выше;

R² обозначает -COOR^a; и

R^a обозначает водород или C₁-C₆-алкил.

10 На первой стадии промежуточный продукт формулы (VIII), в которой R¹ обозначает водород и R^a обозначает метил, вводят в реакцию с окислительным реагентом, например, с м-хлорпербензойной кислотой (м-ХПБК), при низкой температуре, в подходящем растворителе, например, в дихлорметане, и получают соответствующий N-оксид.

15 На второй стадии N-оксид, полученный на первой стадии, вводят в реакцию с оксидом фосфора и получают соответствующий промежуточный продукт формулы (VIII), в которой R¹ обозначает Y, определенный выше в настоящем изобретении, и R^a обозначает метил.

20 На третьей стадии промежуточный продукт формулы (VIII), в которой R¹ обозначает Y, определенный выше в настоящем изобретении, вводят в реакцию с монооксидом углерода в присутствии основания, например, N,N-диизопропилэтиламина, в присутствии катализатора на основе переходного металла, например, 1,4-бис(дифенилфосфино)бутанпалладий(II)хлорида, и получают соответствующий промежуточный продукт формулы (VIII), в которой R¹ обозначает -COOR^a и R^a обозначает метил. Реакцию обычно проводят при
25 высоком давлении и при высокой температуре.

Затем сложноэфирную группу R¹, содержащуюся в описанном последнем промежуточном продукте, восстанавливают с получением соответствующей

гидроксигруппы, затем проводят гидролиз сложноэфирной группы R^2 с получением соответствующей карбоксигруппы и получают промежуточный продукт формулы (II). Реакцию проводят по методикам, хорошо известным специалисту в данной области техники, и дополнительно описанных в прилагаемых примерах.

Промежуточный продукт формулы (VIII), в которой R^1 обозначает водород и R^a обозначает метил, можно получить по методикам, аналогичным описанным в прилагаемых примерах, или по стандартным методикам, известным специалисту в данной области техники.

Если при использовании любой из описанных выше методик получения соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, образуется смесь продуктов, то искомый продукт можно из нее выделить на подходящей стадии с помощью обычных методик, таких как препаративная ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) или колоночная хроматография с использованием, например, диоксида кремния и/или оксида алюминия вместе с подходящей системой растворителей.

Если при использовании описанных выше методик получения соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, образуется смесь стереоизомеров, то эти изомеры можно разделить по обычным методикам. В частности, когда необходимо получить конкретный энантиомер соединения формулы (I), то его можно получить из соответствующей смеси энантиомеров по любой обычной методике разделения энантиомеров. Так, например, диастереоизомерные производные, например, соли можно получить по реакции смеси энантиомеров формулы (I), например, рацемата с соответствующим хиральным соединением, например, хиральным основанием. Затем диастереоизомеры можно разделить по любым обычным методикам, например, путем кристаллизации и выделить необходимый энантиомер, например, путем обработки кислотой, в случае, если диастереоизомер является солью. В другой методике разделения рацемат формулы (I) можно разделить с помощью хиральной ВЭЖХ. Кроме того, при необходимости конкретный энантиомер можно получить путем использования подходящего хирального промежуточного продукта в одной из методик, описанных выше. Альтернативно, конкретный энантиомер можно получить путем проведения энантиомерно специфического ферментативного

биологического превращения, например, гидролиза сложного эфира с использованием эстеразы с последующей очисткой только энантиомерно чистой образовавшейся вследствие гидролиза кислоты от непрореагировавшего антипода - сложного эфира. Если необходимо получить конкретный
5 геометрический изомер, предлагаемый в настоящем изобретении, то для промежуточных продуктов или конечных продуктов также можно использовать хроматографию, перекристаллизацию и другие обычные методики разделения. Альтернативно, нежелательный энантиомер можно рацемизировать в присутствии кислоты или основания по методикам, известным специалисту в
10 данной области техники, или по методикам, описанным в прилагаемых примерах, и получить желательный энантиомер.

В ходе проведения любой из указанных выше последовательностей синтеза может оказаться необходимой и/или желательной защита чувствительных или реакционноспособных групп, содержащихся в любой из участвующих в
15 реакциях молекул. Это можно выполнить с помощью обычных защитных групп, таких как описанные в публикациях *Protective Groups in Organic Chemistry*, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; и T.W. Greene & P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 3rd edition, 1999. Защитные группы можно удалить на любой подходящей последующей стадии по
20 методикам, известным в данной области техники

Соединения формулы (I), предлагаемые в настоящем изобретении, не активируют допаминовый рецептор D1 непосредственно, а усиливают воздействие агонистов D1 или эндогенного лиганда на допаминовые рецепторы D1 по аллостерическому механизму и поэтому они являются позитивными
25 аллостерическими модуляторами D1 (ПАМ D1).

Допамин и другие агонисты D1 сами непосредственно активируют допаминовый рецептор D1.

Исследования предназначены для изучения воздействия соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, при отсутствии допамина
30 ("исследование активации") и в присутствии допамина ("исследование увеличения активности").

В исследовании активации определяют стимулирование продуцирования циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) при исследовании с помощью

однородной флуоресценции с разрешением по времени (ОФРВ), причем максимальное увеличение количества цАМФ обеспечивают путем увеличения концентраций эндогенного агониста, допамина, и его определяют как активацию, составляющую 100%.

5 По данным исследования соединения формулы (I), приведенные в примерах, не оказывают существенного прямого подобного агонистическому воздействия, поскольку они обеспечивают активацию, составляющую менее 20% (от максимального ответа на допамин) при концентрации, равной 10 мкМ.

10 В исследовании увеличения активности определяют способность соединений увеличивать количество цАМФ, продуцируемого при низкой пороговой концентрации допамина. Такую концентрацию допамина ($[EC_{20}]$) используют, чтобы обеспечить стимулирование, составляющее 20% от максимального ответа (100%), полученного при увеличивающейся концентрации допамина. Для определения этого увеличения соединения при увеличивающихся
15 концентрациях инкубируют с допамином $[EC_{20}]$ и увеличение определяют, как увеличение продуцирования цАМФ, и определяют концентрацию соединения, которая обеспечивает увеличение концентрации цАМФ на 50%.

По данным исследования цАМФ с помощью ОФРВ соединения формулы (I), приведенные в примерах, обладают значениями pEC_{50} , равными более
20 примерно 6,5, это показывает, что они являются позитивными аллостерическими модуляторами D1.

Известно, что ингибирование рецептора GABA_A непосредственно связано с припадками и эпилепсией. Поэтому необходимо разработать соединения, которые являются позитивными аллостерическими модуляторами D1, и которые
25 в то же самое время обеспечивают сведение к минимуму таких эффектов.

По данным исследования ингибирования рецептора GABA-A, описанного в настоящем изобретении, соединение формулы (I) обеспечивает выраженное в процентах ингибирование рецептора GABA_A, меньшее или равное примерно 20%, при исследовании соединения формулы (I) при концентрации, равной 10
30 мкМ.

Затруднением, которое может возникнуть при разработке соединений, предназначенных для применения для лечения, является способность

определенных соединений ингибировать ферменты CYP450. Ингибирование таких ферментов может оказывать влияние на воздействие таких соединений или других соединений, которые можно вводить пациенту совместно с ними, при этом, вероятно, изменяются их соответствующие безопасность и эффективность.

5 Поэтому необходимо разработать соединения, которые обеспечивают сведение к минимуму вероятности ингибирования.

Способность соединения формулы (I), предлагаемого в настоящем изобретении, ингибировать CYP450 исследуют путем определения возможного уменьшения активностей CYP450 в гепатоцитах человека, которые инкубируют с соединениями, предлагаемыми в настоящем изобретении, при
10 увеличивающихся концентрациях.

По данным исследования ингибирования CYP3A4, проводимого при концентрации, равной 1 и 20 мкМ, в соответствии с протоколом, описанным в настоящем изобретении, соединение формулы (I), предлагаемое в настоящем изобретении, обеспечивает ингибирование, составляющее менее примерно 40%,
15 в идеальном случае менее примерно 30%.

При разработке соединения, предназначенного для применения для лечения, важно иметь сведения о его выведении после его введения в организм.

Клиренс является параметром, который обеспечивает такие сведения, поскольку он означает объем плазмы (или крови), полностью очищенный от исследуемого соединения за единицу времени. Обычно его выражают в мл/мин/кг или л/ч. Затем его можно сопоставить с любым физиологическим кровотоком (например, печеночным кровотоком) для определения того, является ли клиренс низким, средним или высоким.
20

Если клиренс является низким, то в зависимости от объема распределения можно ожидать необходимость низкой дозы и обеспечение сравнительно продолжительного воздействия. Если клиренс является высоким, то также в зависимости от объема распределения можно ожидать необходимость высокой дозы и обеспечение сравнительно непродолжительного воздействия.
25

Клиренс обычно оценивают в соответствии с протоколами, описанными в настоящем изобретении, с использованием инкубирования с гепатоцитами и расчетов путем масштабирования данных, полагая, что основным путем
30

выведения является метаболизм. Собственный клиренс, рассчитанный с использованием гепатоцитов, выражают в мкл/мин/ 10^6 клеток.

Предпочтительно, если по данным исследования клиренса, описанного в настоящем изобретении, соединение формулы (I), предлагаемое в настоящем изобретении, обладает клиренсом, равным менее примерно $10 \text{ мкл/мин/}10^6$ клеток.

Исследование цАМФ с помощью ОФРВ

Конкретные условия, при которых исследовали соединения, приведены ниже в настоящем изобретении.

а. Методики с использованием культуры клеток, экспрессирующих D1
Клетки выращивали при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO_2 . Клетки выращивали в среде DMEM-F12+GlutaMAXTM-I (GIBCO[®], Invitrogen, Merelbeke, Belgium), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (BioWhittaker[®], Lonza, Verviers, Belgium), 400 мкг/мл генетина (GIBCO[®]), 100 МЕ/мл пенициллина (МЕ = международные единицы) и 100 МЕ/мл стрептомицина (раствор Pen-Strep, BioWhittaker[®]). Использовали фибробласты мышей LMTk (Ltk-), экспрессирующие допаминовый рецептор D1 (BioSignal Inc, Montreal, Canada, в настоящее время Perkin Elmer) и установлено, что они эффективно связываются и дают устойчивые функциональные реакции (Watts *et al*, 1995).

б. Исследование цАМФ

Исследование изменения концентрации внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) определяли с использованием набора для динамического исследования цАМФ с помощью ОФРВ, выпускающегося фирмой CisBio (Codolet, France). В исследовании использовали методику однородной флуоресценции с разрешением по времени и оно основано на определении конкурентности между нативным цАМФ, продуцируемым клетками, и цАМФ, меченым с помощью красителя d2. Связывание метки определяли с использованием антител к цАМФ, меченых криптатом.

Воздействие только соединения (агонизм) определяли путем проведения исследования при отсутствии допамина, тогда как воздействие соединения, как позитивного аллостерического модулятора (ПАМ), определяли в присутствии

допамина, при концентрации, равной EC_{20} . Клетки (20000 клеток/лунка) инкубировали в 384-луночных планшетах при комнатной температуре в течение 1 ч при конечном объеме в ССРХ (сбалансированный солевой раствор Хенкса) (Lonza, содержащий кальций, магний и 20 мМ буфера HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота), pH 7,4), равном 20 мкл, содержащих: изобутилметилксантин (Sigma, конечная концентрация: 0,1 мМ), исследуемое соединение при разных концентрациях (обычно от $10^{-9,5}$ до $10^{-4,5}$ М) в присутствии и при отсутствии допамина (конечная концентрация: 1,1 нМ). Затем реакцию останавливали и клетки лизировали путем добавления реагента для детектирования d2 в буфере для лизиса (10 мкл) и содержащего криптан реагента в буфере для лизиса (10 мкл) в соответствии с инструкциями изготовителя. Затем смеси инкубировали при комнатной температуре в течение еще 60 мин и определяли изменение сигналов испускания флуоресценции в ОФРВ в соответствии с инструкциями изготовителя с использованием устройства для считывания планшетов Envision (Perkin Elmer, Zaventem, Belgium) при возбуждении лазером. Все инкубирования проводили дважды и результаты сравнивали с полученной для допамина зависимостью концентрация-эффект (от 10^{-11} до 10^{-6} М).

с. Анализ результатов

Результаты анализировали с помощью Excel и PRISM (GraphPad Software) и получали значения pEC_{50} и $E_{отн}$ с использованием 4-параметрического логистического уравнения (DeLean et al, 1978), где $E_{отн}$ обозначает аппроксимированный максимальный ответ на исследуемое соединение за вычетом фона, выраженный в процентах от значения, полученного при использовании допамина, который определен, как 100%.

Значение pEC_{50} соединения равно $-\log_{10}$ концентрации соединения, которая обеспечивает увеличение концентрации цАМФ на 50%.

$E_{отн}$ обозначает относительную эффективность, определенную, как выраженное в % максимальное значение увеличения активности, обеспечиваемое соединением, по сравнению с максимальным ответом, полученным при увеличивающихся концентрациях допамина ($E_{отн}$, равное 1, = максимальный ответ на допамин).

По данным описанного в настоящем изобретении исследования соединения формулы (Ia) обладает значением pEC_{50} , равным примерно 6,9, и соединение формулы (Ib) обладает значением pEC_{50} , равным примерно 6,7.

Соответствующее значение E_{0TH} , которым обладает соединение формулы (Ia), равно примерно 64%, и соответствующее значение E_{0TH} , которым обладает соединение формулы (Ib), равно примерно 61%.

Автоматизированные исследования фиксации потенциала с использованием клеток, содержащих рецептор $GABA_A$

Использовали клетки CHO-K1, стабильно экспрессирующие субъединицы $\alpha 1, \alpha 2$ и $\alpha 2$ рецептора $GABA_A$ человека. Клетки выращивали с использованием трипсина и выдерживали в бессывороточной среде при комнатной температуре. До проведения исследования клетки промывали и повторно суспендировали во внеклеточном растворе.

Исследования фиксации потенциала

Эксперименты с использованием каналов $GABA_A$ ($\alpha 1 \beta 2 \gamma 2$) человека проводили путем автоматизированного исследования фиксации потенциала (IonFluxTM HT). Соединения исследовали при 3 концентрациях (0,1, 1 и 10 мкМ) с использованием от 3 до 4 клеток. Внешний раствор, предназначенный для регистрации токов $GABA_A$, состоял из 137 мМ хлорида натрия, 4 мМ хлорида калия, 1,8 мМ хлорида кальция, 1 мМ хлорида магния, 10 мМ HEPES и 10 мМ глюкозы. Внешний и внутренний растворы титровали с помощью NaOH или KOH и обеспечивали значение pH, равное 7,35 или 7,3 соответственно. Внутренний подаваемый пипеткой раствор содержал 70 мМ фторида калия, 60 мМ хлорида калия, 70 мМ хлорида натрия, 5 мМ HEPES, 5 мМ ЭГТК (этиленгликольтетрауксусная кислота) и 4 мМ комплекса магний-АТФ (аденозинтрифосфат). Конечная концентрация растворителя, ДМСО, используемого для разведения соединений составляла 0,33% в каждой лунке. В качестве ингибитора-положительного контроля использовали бикикуллин (от 0,032 до 100 мкМ). В качестве агониста использовали GABA (15 мкМ). Все измерения проводили при исходном потенциале, равном -60 мВ.

Последовательность добавления соединения являлась следующей: для определения базового ответа добавляли GABA при концентрации,

соответствующей ЕС₈₀. Обработывали соединением при каждой концентрации в течение 30 с, затем обрабатывали с помощью 15 мкМ GABA в присутствии соединения в течение 2 с. Процедуру повторяли с использованием следующей более высокой концентрации соединения. Определяли максимальные значения входящего тока, как ответ на добавления GABA в присутствии соединения при одной концентрации. Все полученные для соединения результаты нормировали на базовое максимальное значение тока, полученное при обработке с помощью 15 мкМ GABA в течение 2 с.

По данным описанного выше исследования соединение формулы (Ia) при концентрации, равной 10 мкМ, обеспечивает выраженное в процентах ингибирование рецептора GABA_A, составляющее примерно 13%.

По данным описанного выше исследования соединение формулы (Ib) при концентрации, равной 10 мкМ, обеспечивает выраженное в процентах ингибирование рецептора GABA_A, составляющее примерно 20% .

Исследование способности ингибирования CYP3A4 *in vitro* с использованием замороженных микросом человека

Задачей исследования с использованием микросом человека являлось определение ингибирующей способности соединения формулы (I), проводимое путем определения активностей CYP3A4 после его совместного инкубирования с мидазолом, специфичным по отношению к CYP3A4 субстратом.

Для этой цели замороженные микросомы человека (взятые у объединенных доноров) распределяли в лунки 48-луночного планшета с покрытием из коллагена таким образом, что конечная концентрация составляла 0,25 мг/мл. Затем в лунки добавляли соединение фирмы UCB при концентрации, равной 1 мкМ и 20 мкМ, при двукратном проведении каждого исследования. После инкубирования в течение 30 мин добавляли мидазол при концентрации, равной 2,5 мкМ. Через 15 мин аликвоту отбирали и помещали в такой же объем метанола, содержащего внутренний стандарт. Образцы центрифугировали при скорости, равной 2500 об/мин, при 4°C в течение 20 мин. Аликвоту надосадочной жидкости разводили деионизированной водой и определяли концентрации 1-гидроксиимидазола с помощью типичных методик ЖХ-МС/МС.

Значения концентраций сопоставляли со значениями, полученными при инкубировании с мидазолом при такой же концентрации, но без проведения предварительного инкубирования с соединением фирмы UCB. результаты представляли в виде выраженного в % ингибирования.

- 5 Соединение формулы (Ia), предлагаемое в настоящем изобретении, обеспечивает выраженное в процентах ингибирование CYP3A4, составляющее примерно 28% при концентрации, равной 20 мкМ, и составляющее примерно 20% при концентрации, равной 1 мкМ.

Исследование с использованием азамулина

- 10 Замороженные гепатоциты человека (смесь образцов, взятых у 20 доноров, партия BSU фирм Celsis/IVT/Bioreclamation) оттаивали в соответствии с рекомендациями поставщика. Жизнеспособность (отбор с помощью красителя трипановый синий) превышала 75%. Предварительное инкубирование (250 мкл суспензии гепатоцитов при концентрации, равной 2×10^6 гепатоцитов/мл)
- 15 проводили в среде Вильямса, содержащей 2 мМ глутамина и 15 мМ HEPES, в 48-луночных планшетах при +37°C, в инкубаторе (5% CO₂), при осторожном встряхивании (вибрирующее встряхивающее устройство, Titramax 100, примерно 300 об/мин) в течение 30 мин. После предварительного инкубирования начинали инкубирование путем добавления к гепатоцитам 250 мкМ культуральной среды
- 20 (состав описан выше), содержащей соединение фирмы UCB (1 мкМ) или мидазол (положительный контроль). Конечные концентрации соединения фирмы UCB в инкубируемых смесях составляли 0,5 мкМ. Суспензии клеток быстро повторно гомогенизировали путем проводимого 2 раза втягивания пипеткой и выпуска из нее. После инкубирования в течение 0, 30, 60, 120,
- 25 180 и 240 мин реакции останавливали путем переноса 50 мкл инкубированных смесей в соответствующие лунки 96-луночного планшета, содержащие 50 мкл охлажденного льдом ацетонитрила с добавлением 1 мкМ кетоконазола, использующегося в качестве внутреннего стандарта. Перед каждым отбором образцов инкубированные клетки повторно гомогенизировали путем
- 30 проводимого 2 раза втягивания пипеткой и выпуска из нее.

Для определения концентрации соединения UCB образцы анализировали по биоаналитической методике ЖХ-МС-МС. Проводили аппроксимацию

зависимости концентрации от времени для определения собственного клиренса (Clint), выраженного в мкл/мин/ 10^6 клеток.

При инкубировании с суспензией гепатоцитов человека собственный клиренс (Clint) соединения формулы (Ia), предлагаемого в настоящем

5 изобретении, составляет примерно 8,8 мкл/мин/ 10^6 клеток и собственный клиренс (Clint) соединения формулы (Ib) составляет примерно 9,2 мкл/мин/ 10^6 клеток.

В приведенных ниже примерах проиллюстрировано получение соединений формулы (I), предлагаемых в настоящем изобретении.

10 ПРИМЕРЫ

Аббревиатуры/многократно использовавшиеся реагенты

АЦН: ацетонитрил

цАМФ: циклический аденозинмонофосфат

Рассол: насыщенный водный раствор хлорида натрия

15 nBu: н-бутил

tBu: трет-бутил

СНО: яичник китайского хомячка

м-ХПБК: 3-хлорпербензойная кислота

СУР450: цитохромы P450

20 ДХМ: дихлорметан

ДМФ: N,N-диметилформамид

ДМСО: диметилсульфоксид

ЕС_{20/50}: концентрация, при которой обеспечивается 20%/50% от максимального значения ответа

25 ЭГТА: эгтазовая кислота (этиленгликольтетрауксусная кислота)

Е_{отн}: относительная эффективность

ЭР⁺: ионизация электрораспылением в режиме положительных ионов

Et: этил

EtOH: этанол

30 Et₂O: диэтиловый эфир

EtOAc: этилацетат

GABA: γ-аминомасляная кислота

- ч: час(ы)
- NEPES: 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота
- ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография
- ОФРВ: однородная флуоресценция с разрешением по времени
- 5 ЖХМС: жидкостная хроматография - масс-спектрометрия
- ДАЛ: диизопропиламид лития
- MeOH: метанол
- мин: минута (минуты)
- ЯМР: ядерный магнитный резонанс
- 10 iPrOH: изопропанол
- КТ: комнатная температура
- НЖХ: надкритическая жидкостная хроматография
- ТЭА: триэтиламин
- ТГФ: тетрагидрофуран
- 15 ТСХ: тонкослойная хроматография

Названия, соответствующие нормам IUPAC (Международный союз теоретической и прикладной химии), получают с помощью программного обеспечения Biovia Draw 16.1.

Методики анализа

- 20 Все реакции, в которых используют реагенты, чувствительные к воздействию воздуха или влаги, проводят в атмосфере азота или аргона с использованием высушенных растворителей и стеклянной посуды. Имеющиеся в продаже растворители и реагенты обычно используют без дополнительной очистки, включая безводные растворители, когда это является целесообразным
- 25 (обычно продукты Sure-Seal™, выпускающиеся фирмой Aldrich Chemical Company, или AcroSeal™, выпускающиеся фирмой ACROS Organics). За протеканием реакций обычно следят с помощью тонкослойной хроматографии, ВЭЖХ или масс-спектрометрии.

- Анализы с помощью ВЭЖХ проводят с использованием системы для ВЭЖХ
- 30 Agilent 1100 series с колонкой Waters XBridge MS C18, 5 мкм, 150×4,6 мм. Градиентный режим начинается от 100% растворителя А (смесь вода/АЦН/раствор формиата аммония состава 85/5/10 (об./об./об.)) до 100% растворителя В (смесь вода/АЦН/раствор формиата аммония состава 5/85/10

(об./об./об.) за 6 мин с выдерживанием при 100% В в течение 5 мин. Скорость потока устанавливают равной 8 мл/мин в течение 6 мин, затем увеличивают до 3 мл/мин за 2 мин с выдерживанием при 3 мл/мин в течение 3 мин. Деление пробы 1/25 используют непосредственно перед источником ИАД (ионизация при атмосферном давлении). Хроматографию проводят при 45°C. Раствор формиата аммония (рН~8,5) готовят путем растворения формиата аммония (630 мг) в воде (1 л) с добавлением 30% раствора гидроксида аммония (500 мкл).

Для специалиста в данной области техники должно быть очевидно, что при использовании разных условий анализа с помощью ЖХ можно получить разные значения времен удерживания.

Масс-спектрометрические исследования в режиме ЖХМС проводят следующим образом:

- Для проведения элюирования в щелочной среде при анализе используют следующие условия:

Для анализа с помощью ЖХМС используют масс-спектрометр с одной квадрупольной линзой QDA Waters. Этот спектрометр снабжен источником ИЭР (ионизация электрораспылением) и UPLC Acquity Hclass с детектором с диодной матрицей (от 200 до 400 нм). Сбор данных проводят в режиме полного сканирования в МС от 70 до 800 m/z, в режиме положительных ионов и при элюировании в щелочной среде. Разделение с использованием обращенной фазы проводят при 45°C с использованием колонки Waters Acquity UPLC BEH C18, 1,7 мкм (2,1×50 мм) для элюирования в щелочной среде. Элюирование в градиентном режиме проводят с использованием смеси вода/АЦН/формиат аммония (95/5/63 мг/л) (растворитель А) и смеси АЦН/вода/формиат аммония (95/5/63 мг/л) (растворитель В). Инжектируемый объем: 1 мкл. Полнопоточный режим в МС.

Программа в щелочной среде "4 мин"

Время (мин)	А (%)	В (%)	Скорость потока (мл/мин)
0	99	1	0,4
0,3	99	1	0,4
3,2	0	100	0,4
3,25	0	100	0,5
4	0	100	0,5

Программа в щелочной среде "10 мин"

Время (мин)	A (%)	B (%)	Скорость потока (мл/мин)
0	99	1	0,4
0,8	99	1	0,4
5,3	0	100	0,4
5,35	0	100	0,5
7,30	0	100	0,5

- Для проведения элюирования в кислой среде при анализе используют следующие условия:

- 5 Для анализа с помощью ЖХМС используют масс-спектрометр с одной квадрупольной линзой QDA Waters. Этот спектрометр снабжен источником ИЭР и UPLC Acquity Hclass с детектором с диодной матрицей (от 200 до 400 нм). Сбор данных проводят в режиме полного сканирования в МС от 70 до 800 m/z, в режиме положительных ионов и при элюировании в кислой среде. Разделение с
- 10 использованием обращенной фазы проводят при 45°C с использованием колонки Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 мкм (2,1×50 мм) для элюирования в кислой среде. Элюирование в градиентном режиме проводят с использованием смеси вода/АЦН/ТФК (трифторуксусная кислота) (95/5/0,5 мл/л) (растворитель А) и АЦН (растворитель В). Инжектируемый объем: 1 мкл. Полнопоточный режим в
- 15 МС.

Программа в кислой среде "4 мин"

Время (мин)	A (%)	B (%)	Скорость потока (мл/мин)
0	99	1	0,4
0,3	99	1	0,4
3,2	5	95	0,4
3,25	5	95	0,5
4	5	95	0,5

Программа в кислой среде "10 мин"

Время (мин)	A (%)	B (%)	Скорость потока (мл/мин)
0	99	1	0,4
0,8	99	1	0,4
5,3	5	95	0,4
5,35	5	95	0,5
7,30	5	95	0,5

Неочищенные вещества можно очистить с помощью хроматографии с нормальной фазой, хроматографии с обращенной фазой (в кислой или щелочной среде), хирального разделения или перекристаллизации.

Обычную хроматографию с обращенной фазой проводят с использованием колонок с силикагелем (силикагель 100:200 меш или колонок Puriflash®-50SINC-JP, выпускающиеся фирмой Interchim).

Препаративную хроматографию с обращенной фазой проводят следующим образом:

- Очистка с помощью ЖХМС (щелочная среда, препаративная ЖХМС)

Очистку с помощью ЖХМС проводят с использованием масс-спектрометра с тремя квадрупольными линзами SQD или QM Waters. Этот спектрометр снабжен источником ИЭР и насосом для подачи четырех компонентов для препаративной ЖХ Waters с детектором с диодной матрицей (от 210 до 400 нм).

Параметры МС: Напряжение на капилляре ИЭР равно 3 кВ. Напряжение на конусе и экстракторе равно 10 В. Температура блока источника равна 120°C. Температура десольватации равна 300°C. Скорость потока газа на конусе равна 30 л/ч (азот). Скорость потока десольватирующего газа равна 650 л/ч. Сбор данных проводят в режиме полного сканирования в МС от 100 до 700 m/z, в режиме положительных ионов при элюировании в кислой среде или в щелочной среде.

Параметры ЖХ: Разделение с использованием обращенной фазы проводят при КТ с использованием колонки XBridge prep OBD C18 (5 мкм, 30×50 мм) (для элюирования в щелочной среде). Элюирование в градиентном режиме проводят с использованием воды (растворитель А), АЦН (растворитель В), 8 г/л бикарбоната аммония в воде + 500 мкл/л 30% NH₄ОН (растворитель С) (pH~8,5). Скорость потока в ВЭЖХ: от 35 до 60 мл/мин, инжестируемый объем: 1 мл. Отношение деления потока для МС устанавливают равным +/- 1/6000.

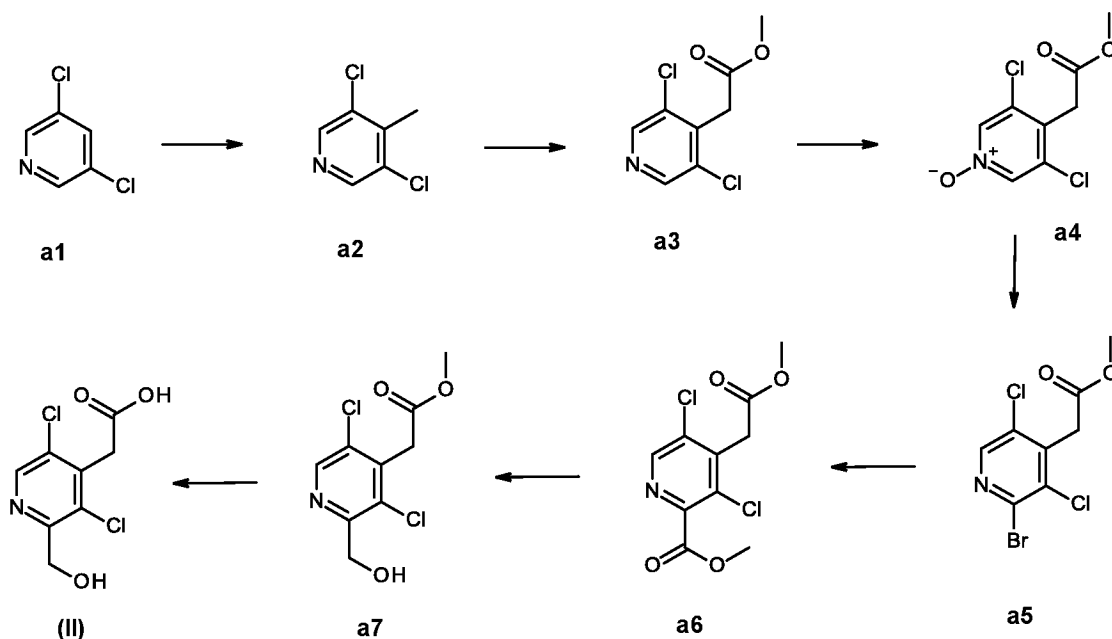
Время (мин)	А (%)	В (%)	С (%)	Скорость потока (мл/мин)
0	85	5	10	35
1	85	5	10	35
7	5	85	10	35
9	5	95	0	60
12	5	95	0	60
12,5	85	5	10	35
16	85	5	10	35

Неочищенные вещества можно очистить с помощью хроматографии с нормальной фазой, хроматографии с обращенной фазой (в кислой или щелочной среде), хирального разделения или перекристаллизации.

5 Перед проведением окончательных анализов и биологических исследований продуктов их обычно сушат в вакууме.

Все спектры ЯМР снимают при 250 МГц, 300 МГц, 400 МГц или 500 МГц.

1. Получение промежуточного продукта (II) - 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]уксусной кислоты



1.1. Получение 3,5-дихлор-4-метилпиридина a2

В реактор в атмосфере азота помещают ДАЛ (1,86 л, 2М раствор в ТГФ, 3,72 моля) и ТГФ (5,0 л). При -20°C добавляют 3,5-дихлор-4-метилпиридин a1 (500 г, 3,38 моля) и смесь перемешивают при -10°C в течение 30 мин.

15 Реакционную смесь охлаждают до -70°C и добавляют метилиодид (815 г, 5,74 моля). Смеси дают нагреться до комнатной температуры и ее перемешивают в течение 4 ч. Всю эту процедуру проводят одновременно с использованием 4 порций одинакового размера и их обрабатывают вместе. Смесь охлаждают до 0°C и реакцию останавливают водой (5 л) и смесь перемешивают в течение 10 мин. Водную фазу экстрагируют этилацетатом (2×3 л) и объединенную органическую фазу дважды промывают рассолом (10 л), сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют и концентрируют в вакууме. Неочищенный

20

продукт очищают путем перекристаллизации из этанола (4 л) при -70°C и получают 3,5-дихлор-4-метилпиридин а2 в виде желтого твердого вещества (1,5 кг, выход 68,5%).

1.2. Получение метил-2-(3,5-дихлор-4-пиридил)ацетата - промежуточного продукта а3

В реактор помещают 3,5-дихлор-4-метилпиридин а2 (375 г, 2,31 моля) и ДМФ (1,87 л) и смесь охлаждают до 15°C . В атмосфере азота при $10-15^{\circ}\text{C}$ добавляют трет-бутоксид калия (779 г, 6,94 моля) и смесь перемешивают при 15°C в течение 30 мин. При $10-15^{\circ}\text{C}$ добавляют диметилкарбонат (730 г, 8,10 моля) и смесь перемешивают при 30°C в течение 4 ч. Всю эту процедуру проводят одновременно с использованием 4 порций одинакового размера и их обрабатывают вместе. Смесь охлаждают до 0°C и реакцию останавливают водой (10 л) и смесь перемешивают в течение 10 мин. Реакционную смесь фильтруют и осадок на фильтре дважды промывают этилацетатом (2 л). Водную фазу дважды экстрагируют этилацетатом (3 л) и объединенную органическую фазу дважды промывают рассолом (5 л), сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют и концентрируют в вакууме и получают метил-2-(3,5-дихлор-4-пиридил)ацетат а3 в виде черно-коричневой жидкости (1,3 кг, выход 63,8%), которую используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

1.3. Получение метил-2-(3,5-дихлор-1-оксидопиридин-1-ий-4-ил)ацетата - промежуточного продукта а4

В реактор помещают метил-2-(3,5-дихлор-4-пиридил)ацетат а3 (650 г, 2,95 моля) и дихлорметан (3,25 л). В атмосфере азота при 0°C добавляют м-ХПБК (1,27 кг, 5,91 моля, чистота 80%) и смесь перемешивают при 25°C в течение 5h. Всю эту процедуру проводят одновременно с использованием 2 порций одинакового размера и их обрабатывают вместе. Смесь охлаждают до 0°C и реакцию останавливают водой (4 л) и смесь перемешивают в течение 10 мин. Реакционную смесь фильтруют и осадок на фильтре дважды промывают дихлорметаном (3 л). Водную фазу дважды экстрагируют дихлорметаном (2 л) и объединенную органическую фазу трижды промывают насыщенным раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (15 л) и дважды рассолом (10 л), затем сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат, от 20:1 до 1:1) и

получают метил-2-(3,5-дихлор-1-оксидопиридин-1-ий-4-ил)ацетат а4 в виде желтого твердого вещества (900 г, выход 64,2%).

1.4. Получение метил-2-(2-бром-3,5-дихлор-4-пиридил)ацетата - промежуточного продукта а5

5 В реактор при 20°C помещают метил-2-(3,5-дихлор-1-оксидопиридин-1-ий-4-ил)ацетат а4 (900 г, 3,81 моля) и ацетонитрил (8 л). В атмосфере азота при 0°C добавляют оксидбромид фосфора (POBr₃, 1,09 кг, 3,81 моля) и смесь перемешивают при 25°C в течение 12 ч. Всю эту процедуру проводят одновременно с использованием другой порции (количество: 1,64 моля) и 2
10 порции обрабатывают вместе. Смесь охлаждают до 0°C и реакцию останавливают водой (3 л) и смесь перемешивают в течение 10 мин. Водную фазу дважды экстрагируют этилацетатом (2 л). Объединенную органическую фазу дважды промывают рассолом (5 л), сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью
15 хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат, от 50:1 до 1:1) и получают метил-2-(2-бром-3,5-дихлор-4-пиридил)ацетат а5 в виде почти белого твердого вещества (503 г, выход 43%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,32 (s, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,75 (s, 3H)

20 1.5. Получение метил-3,5-дихлор-4-(2-метокси-2-оксоэтил)пиридин-2-карбоксилата - промежуточного продукта аб

К раствору метил-2-(2-бром-3,5-дихлор-4-пиридил)ацетата а5 (3 г, 10,03 ммоль) в метаноле (60 мл) добавляют N,N-диизопропилэтиламин (2,42 мл, 14,6 ммоль) и 1,4-бис(дифенилфосфино)бутанпалладий(II)хлорид (91 мг, 0,15 ммоль). Реактор трижды продувают азотом, затем герметизируют (3 раза продувают) с
25 использованием монооксида углерода при давлении, равном 5 бар, и смесь нагревают при 80°C в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтруют при комнатной температуре через целит и растворитель удаляют при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищают с помощью колоночной хроматографии. (Biotage SNAP Ultra, 25 г, элюент: этилацетат:гексан, 1:1).
30 Растворитель удаляют в вакууме и получают 3,5-дихлор-4-(2-метокси-2-оксоэтил)пиридин-2-карбоксилат аб в виде желтой жидкости (1,84 г, выход 66%).

ЖХМС (MН⁺): 278.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,75 (s, 1H), 4,12 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,68 (s, 3H).

1.6. Получение метил-2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]ацетата - промежуточного продукта а7

К раствору метил-3,5-дихлор-4-(2-метокси-2-оксоэтил)пиридин-2-
5 карбоксилата а6 (305 мг, 1,09 ммоль) в ТГФ (10 мл) при комнатной температуре добавляют борогидрид натрия (124 мг, 3,29 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь фильтруют и растворитель удаляют в вакууме. Неочищенный продукт очищают с помощью колоночной хроматографии (Biotage SNAP Ultra, 25 г, элюент:
10 дихлорметан:метанол, от 100:0 до 90:10). Растворитель удаляют в вакууме и получают метил-2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]ацетат а7 в виде твердого вещества (139 мг, выход 50%).

ЖХМС (MH^+): 250.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,51 (s, 1H), 4,78 (s, 2H), 4,04 (s, 2H), 3,74 (s, 3H).

15 Сигнал содержащегося в ОН протона отсутствует.

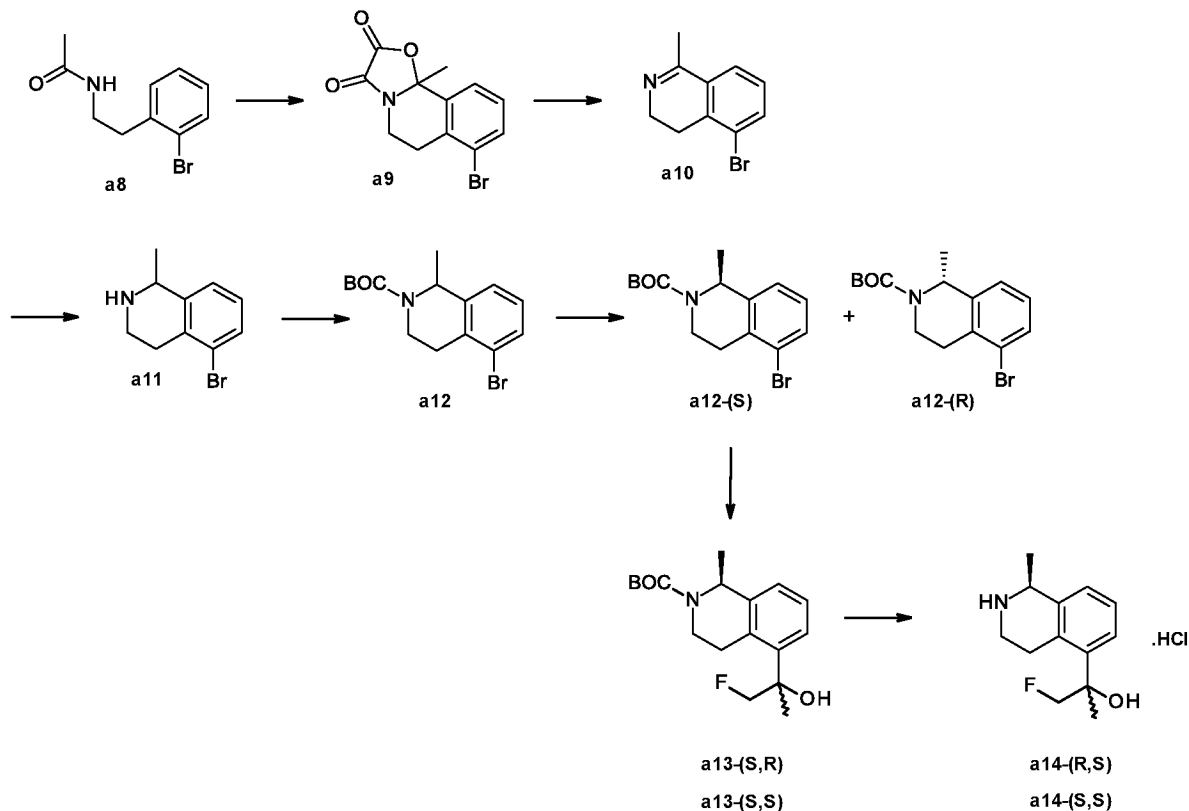
1.7. Получение промежуточного продукта (II) - 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]уксусной кислоты

К раствору метил-2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]ацетата а7
(98,1 г, 392 ммоль) в смеси ТГФ (1,1 л) и воды (110 мл) добавляют моногидрат
20 гидроксида лития (25,2 г, 589 ммоль). Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 18 ч, затем ее концентрируют в вакууме. Остаток азеотропно перегоняют с толуолом (3×250 мл) и получают 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]уксусную кислоту (II) в виде сыпучего почти белого порошкообразного вещества (92,6 г, выход 100%). Продукт
25 используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,54 (s, 1H), 4,62 (s, 2H), 2,46 (s, 2H). Сигналы содержащихся в двух ОН протонов отсутствуют.

2. Получение промежуточного продукта (III)

Получение (1R)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида а14-(R,S) и (1S)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида а14-(S,S)



2.1. Получение промежуточного продукта (VI) - 7-бром-10b-метил-6,10b-дигидро-5H-[1,3]оксазоло[2,3-а]изохинолин-2,3-диона а9

К раствору N-[2-(2-бромфенил)этил]ацетамида а8 (имеется в продаже, 106,5 г, 439,8 ммоль) в ДХМ (1,5 л) при 0°C по каплям добавляют оксалилхлорид (72 мл, 838,7 ммоль). Смесь перемешивают при 0°C в течение 2 ч, затем ей дают нагреться до КТ и ее перемешивают в течение 3 ч. Затем реакционную смесь охлаждают до 0°C и 2 порциями добавляют хлорид железа(III) (86 г, 530,2 ммоль). Реакционной смеси дают нагреться до КТ, ее перемешивают при КТ в течение ночи, разбавляют с помощью ДХМ (2,5 л) и затем реакцию при 0°C останавливают раствором аммиака, обладающим концентрацией, равной 12М (200 мл). Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме и получают 108 г 7-бром-10b-метил-6,10b-дигидро-5H-[1,3]оксазоло[2,3-а]изохинолин-2,3-диона а9 в виде коричневого твердого

вещества, которое используют на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

Выход (неочищенного соединения): 83%.

ЖХМС (ЭР⁺): 296/298 (М+Н)⁺.

5 2.2. Получение промежуточного продукта (V) - 5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолина а10

10 К суспензии 7-бром-10b-метил-6,10b-дигидро-5Н-[1,3]оксазоло[2,3-а]изохинолин-2,3-диона а9 (108 г, 364,72 ммоль) в MeOH (1,5 л) при КТ по каплям добавляют серную кислоту (75 мл). Реакционную смесь перемешивают при 65°C в течение ночи, затем реакцию при 0°C останавливают раствором аммиака, обладающим концентрацией, равной 15М (300 мл). Смесь концентрируют в вакууме и добавляют воду (300 мл). Водный слой 6 раз экстрагируют с помощью ДХМ (1 л). Органический слой сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме и получают 86,44 г 5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолина а10 в виде коричневого твердого вещества, которое используют на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

15 Выход (неочищенного соединения): количественный.

ВЭЖХ (щелочная среда): ВУ (время удерживания) 4,75 мин, чистота 87%.

20 2.3. Получение промежуточного продукта (IV) - 5-бром-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина а11

25 К раствору 5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолина а10 (86,44 г, 385,9 ммоль) в EtOH (2 л) при 0°C порциями (13×1 г) добавляют борогидрид натрия (13,2 г, 349 ммоль). Смесь перемешивают при 0°C в течение 2 ч, затем при 0°C добавляют 5 н. водный раствор HCl (250 мл). Реакционную смесь перемешивают при КТ в течение ночи, затем EtOH удаляют в вакууме. Добавляют ДХМ (1 л) и реакцию при 0°C останавливают раствором аммиака, обладающим концентрацией, равной 6М (400 мл). Органический слой дважды экстрагируют с помощью ДХМ (500 мл), сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме и получают 83 г 5-бром-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина а11 в виде коричневого твердого вещества, которое используют на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

30 Выход (неочищенного соединения): 95%.

ВЭЖХ (щелочная среда): ВУ 4,53 мин, чистота 80%.

2.4. Получение трет-бутил-5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-карбоксилата - промежуточных продуктов a12, a12-S и a12-R

К раствору 5-бром-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина a11 (78 г, 345 ммоль) в ДХМ (1 л) при 0°C добавляют ТЭА (160 мл, 1136 ммоль). Затем при 5 0°C по каплям добавляют раствор ди-трет-бутилдикарбоната (65 г, 294,8 ммоль) в ДХМ (250 мл). Реакционную смесь перемешивают при КТ в течение ночи и реакцию останавливают водой (100 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток дважды растирают со смесью 10 MeOH/н-гексаны (1:2, 450 мл) и получают 63 г трет-бутил-5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-карбоксилата a12 (выход: 56%, ВЭЖХ (щелочная среда): ВУ 6,59 мин, чистота 98%) в виде белого твердого вещества.

Хиральное разделение (НЖХ, Welko 01(R,R), 50×227 мм, 360 мл/мин, 220 нм, 25°C, элюент: от 20% iPrOH) рацемата трет-бутил-5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-карбоксилата a12 дает:

15 - 25,1 г трет-бутил-(1S)-5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-карбоксилата a12-S в виде твердого вещества.

Выход: 22%.

ВЭЖХ (щелочная среда): ВУ 6,59 мин, чистота 91%.

Хиральный анализ (ЖХ, Welko-01 (R,R), 250×4,6 мм, 1 мл/мин, 220 нм, 30°C, 20 элюент: iPrOH/н-гептан/ДЭА (диэтиламин), 50/50/0,1): ВУ 4,86 мин, ЭИ (энантиомерный избыток) 97,7%.

- 29,3 г трет-бутил-(1R)-5-бром-1-метил-3,4-дигидроизохинолин-2(1H)-карбоксилата a12-R в виде твердого вещества.

Выход: 26%.

25 ВЭЖХ (щелочная среда): ВУ 6,59 мин, чистота 98%.

Хиральный анализ (ЖХ, Welko-01 (R,R), 250×4,6 мм, 1 мл/мин, 220 нм, 30°C, элюент: iPrOH/н-гептан/ДЭА, 50/50/0,1): ВУ 5,62 мин, ЭИ 92,4%.

2.5. Получение трет-бутил-(1S)-5-[(1R)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилата - промежуточного продукта 30 a13-(S,R) и трет-бутил-(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилата - промежуточного продукта a13-(S,S)

трет-Бутил-(1S)-5-бром-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилат a12-S (7 г, 21,45 ммоль) при -78°C растворяют в сухом тетрагидрофуране (107

мл). По каплям добавляют n -BuLi (32,93 ммоль) и смесь перемешивают при -78°C в течение 10 мин. Добавляют фторацетон (4,78 мл, 64,2 ммоль) и смесь перемешивают при КТ в течение 1 ч. Реакцию останавливают 1 н. водным раствором HCl (350 мл), затем смесь трижды экстрагируют дихлорметаном.

5 Органический слой сушат над MgSO_4 , фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью хроматографии с обращенной фазой (щелочная среда, стандартная ЖХ). Хиральное разделение (ЖХ, Chiralpak IC, 80×380 мм, 300 мл/мин, 220 нм, 30°C , элюент: 10% $i\text{PrOH}$ в гептане) дает:

10 - 1,137 г трет-бутил-(1S)-5-[(1R)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилата $\alpha 13$ -(S,R) в виде бежевого твердого вещества.

Выход: 16%

ЖХМС (ЭР^+): 268,0 (M-tBu+H)⁺.

15 Хиральный анализ (ЖХ, Whelko-01 (R,R), $150 \times 4,6$ мм, 1,5 мл/мин, 220 нм, 30°C , элюент: $i\text{PrOH}$ /н-гептан/ДЭА, 10/90/0,1): ВУ 2,37 мин, ЭИ 100%.

- 1,074 г трет-бутил-(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилата $\alpha 13$ -(S,S) в виде бежевого твердого вещества.

Выход: 15%.

20 ЖХМС (ЭР^+): 268,0 (M-tBu+H)⁺.

Хиральный анализ (ЖХ, Whelko-01 (R,R), $150 \times 4,6$ мм, 1,5 мл/мин, 220 нм, 30°C , элюент: $i\text{PrOH}$ /н-гептан/ДЭА, 10/90/0,1): ВУ 2,72 мин, ЭИ 100%.

25 2.6. Получение (1R)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида $\alpha 14$ -(R,S) и (1S)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида -промежуточного продукта $\alpha 14$ -(S,S)

30 трет-Бутил-(1S)-5-[(1R)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилат $\alpha 13$ -(S,R) (1,137 г, 3,516 ммоль) при КТ растворяют в диоксане (18 мл). Добавляют 4 н. раствор HCl в диоксане (8,8 мл, 35 ммоль). Смесь перемешивают при КТ в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и получают 950 мг (1R)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида $\alpha 14$ -(R,S) в виде бежевого твердого вещества.

Выход (неочищенного соединения): количественный.

ЖХМС (ЭР^+): 224,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(1S)-1-Фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорид a14-(S,S)

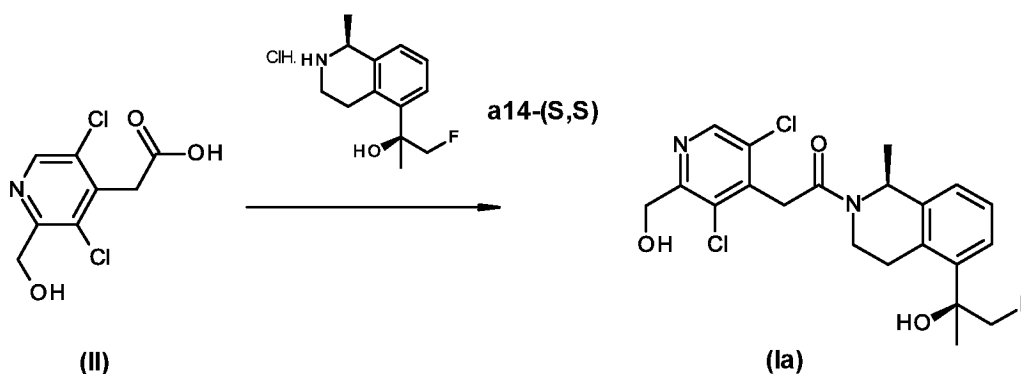
5 Соединение a14-(S,S) можно синтезировать по такой же методике с использованием в качестве исходного вещества трет-бутил-(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-карбоксилата a13-(S,S).

Выход (неочищенного соединения): количественный.

10 ЖХМС (ЭР^+): 224 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

3. Получение соединения формулы (I)

3.1. Получение соединения формулы (Ia) - 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этанона



15 К раствору 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]уксусной кислоты (II) (112 мг, 0,476 ммоль) и (2S)-1-фтор-2-[(1S)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида a14-(S,S) (136 мг, 0,524 ммоль) в ДМФ (6 мл) добавляют (2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуронийгексафторфосфат (HBTU, 217 мг, 0,571 ммоль). Затем при комнатной температуре добавляют N,N-диизопропилэтиламин (0,24 мл, 1,43 ммоль) и смесь перемешивают в течение 2 ч. Реакцию останавливают водой и смесь дважды экстрагируют этилацетатом. Объединенные органические слои сушат над MgSO_4 , фильтруют и растворитель удаляют в вакууме и получают

20 неочищенный продукт. Неочищенный продукт очищают с помощью хроматографии с обращенной фазой (в щелочной среде) и растворитель удаляют в вакууме и получают 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[(1S)-5-

25

[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этанон 1 (116 мг, выход 55%) в виде твердого вещества.

ЖХМС: 441(MH⁺).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,59 (2s, 1H, поворотные изомеры), 7,37-7,09 (m, 3H), 5,48 (m, 1H), 5,34 (m, 2H), 4,72-4,53 (m, 3H), 4,53-4,25 (m, 1,3H), 4,25-4,03 (m, 1,7H), 4,02-3,69 (m, 2H), 3,48 (m, 0,7H), 3,38-3,33 (m, 0,3H частично замаскирован сигналом воды, 3,31-3,07 (m, 1H), 1,60 (d, J=6,7 Гц, 1H), 1,53 (m, 3H), 1,37 (d, J=6,7 Гц, 2H).

3.2. Получение соединения формулы (Ib) - 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[(1S)-5-[(1R)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этанола

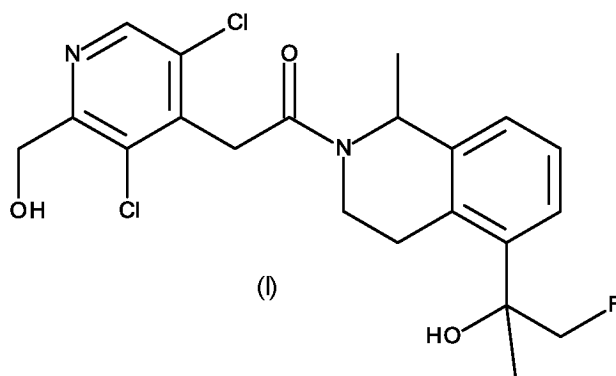
Искомое соединение получают в соответствии с методикой, аналогичной описанной для получения соединения формулы (Ia), с использованием в качестве исходного вещества (2S)-1-фтор-2-[(1R)-1-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-5-ил]пропан-2-олгидрохлорида а14-(S,R).

ЖХМС: 441(MH⁺).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,58 (2s, 1H, 2 поворотных изомера), 7,42-7,07 (m, 4H), 5,47 (s, 1H, поворотные изомеры), 5,41-5,24 (m, 2H), 4,85-4,66 (m, 1H), 4,57-4,24 (m, 2H), 4,09 (s, 3H), 4,01-3,70 (m, 2H), 3,58-3,19 (m, 1H частично замаскирован сигналом воды, 1,59 (d, J=6,7 Гц, 1H), 1,53 (m, 3H), 1,36 (dd, J=6,8, 2,0 Гц, 2H).

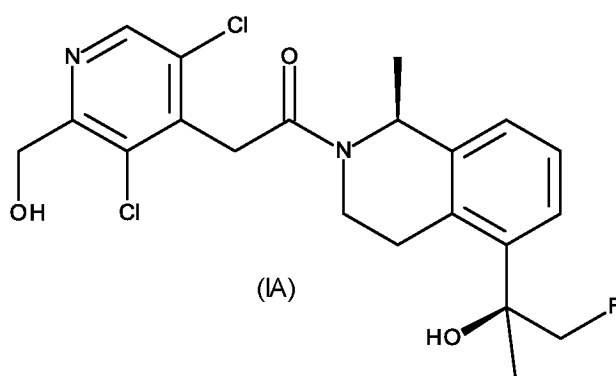
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль,



5

2. Соединение формулы (I) по п. 1, которое представляет собой 2-[3,5-дихлор-2-(гидроксиметил)-4-пиридил]-1-[(1S)-5-[(1S)-2-фтор-1-гидрокси-1-метилэтил]-1-метил-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил]этенон и описывается формулой (IA)



10

3. Соединение формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в терапии.

15 4. Соединение формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения и/или предупреждения заболеваний и/или нарушений, в которых играют роль рецепторы D₁.

20 5. Соединение формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения и/или предупреждения связанных с

познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, нарушения познавательной способности, связанного с лечением нейролептическим средством, слабого нарушения познавательной способности (СНП), импульсивности, синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезни Паркинсона и других нарушений движений, дистонии, слабоумия при болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, слабоумия с тельцами Леви, болезни Альцгеймера, привыкания к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушений сна, апатии, травматического повреждения спинного мозга или невропатической боли.

10

6. Соединение формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль для применения для лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера или связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении.

15

7. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемую соль совместно с фармацевтически приемлемым носителем.

20

8. Способ лечения и/или предупреждения нарушений, для которых показано введение позитивного аллостерического модулятора D1, который включает введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

25

9. Способ лечения и/или предупреждения связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, нарушения познавательной способности, связанного с лечением нейролептическим средством, слабого нарушения познавательной способности (СНП), импульсивности, синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), болезни Паркинсона и других нарушений движений, дистонии, слабоумия при болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, слабоумия с тельцами Леви, болезни Альцгеймера, привыкания к чрезмерному употреблению лекарственного средства или наркотика, нарушений

30

сна, апатии, травматического повреждения спинного мозга или невропатической боли, который включает введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

5

10. Способ лечения болезни Паркинсона и других нарушений движений, болезни Альцгеймера или связанных с познавательной способностью и негативных симптомов шизофрении, который включает введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения формулы (I) по п. 1 или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

10