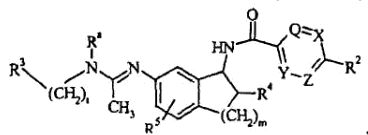


Цей винахід стосується галузі фармацевтичної та органічної хімії і пропонує сполуки, активні відносно мускаринових рецепторів.

Сполуки згідно з цим винаходом є мускариновими агоністами. Більш конкретно, сполуки згідно з цим винаходом є селективними агоністами мускаринового рецептора M-1. Внаслідок цієї властивості вони є корисними для лікування різноманітних розладів центральної нервової системи та інших систем організму, до яких належать розлади пізнавальної здатності, дефіцит уваги з гіперактивністю (ADHD), ожиріння, хвороба Альцгеймера, психози, в тому числі шизофренія, а також для зниження внутрішньочесного тиску, наприклад, при глаукомі.

Деякі інданоподібні сполуки описані як агенти, корисні для лікування хворобливих станів, пов'язаних із порушеннями функцій мускаринової холінергічної системи, [в публікаціях РСТ заявок WO 97/25983, опублікованій 24 липня 1997р., та WO 99/04778, опублікованій 4 лютого 1999р.].

Цей винахід пропонує сполуки Формули I



Формула I

де

Q, X, Y та Z незалежно один від одного вибрані з групи, до якої входять CR<sup>1</sup> та N, за умови, що не більше двох груп з Q, X, Y та Z є N і щонайменше дві групи з Q, X, Y та Z є CH; або Y є CH, Z є CH та фрагмент "Q=X" являє собою "S" і утворює тіофеновий цикл;

R<sup>1</sup> в кожному випадку незалежно вибраний з групи, до якої входять водень, галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл;

R<sup>2</sup> вибраний з групи, до якої входять галоїд; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл; C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкіл; ціан; трифторметил; піридиніл, факультативно заміщений одним або двома замісниками, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл; тініл, факультативно заміщений одним замісником, вибраним із групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл; феніл, факультативно заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл, трифторметил та ціан; та піроліл, факультативно заміщений одним або двома замісниками, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл;

R<sup>3</sup> вибраний з групи, до якої входять феніл, факультативно заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл, трифторметил, ціан та нітрогрупа; нафтил, факультативно заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл, трифторметил, ціан та нітрогрупа; гетероарил, факультативно заміщений одним або двома замісниками, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл; та 1,3-бензодіоксоліл, факультативно заміщений одним замісником, вибраним із групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл;

R<sup>4</sup> вибраний з групи, до якої входять водень, гідроксил та фтор;

R<sup>5</sup> вибраний з групи, до якої входять водень, галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа та C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл;

R<sup>a</sup> вибраний з групи, до якої входять водень та метил;

t є 1, 2 або 3; i

m є 1 або 2;

або фармацевтично прийнятні солі таких сполук.

Цей винахід пропонує також фармацевтичні композиції, які містять сполуку Формули I та фармацевтично прийнятний розріджувач.

Оскільки сполуки Формули I є агоністами мускаринового рецептора M-1, то сполуки Формули I є корисними для лікування різноманітних розладів, пов'язаних з мускариновими рецепторами, до яких належать: розлади пізнавальної здатності (в тому числі віковий розлад пізнавальної здатності, помірна недостатність пізнавальної здатності, погіршення пізнавальної здатності, пов'язане з шизофренією, та погіршення пізнавальної здатності, спричинене хіміотерапією), ADHD, розлади настрою (в тому числі депресія, манія, біполярні розлади), психози (зокрема, шизофренія), деменція (в тому числі хвороба Альцгеймера, деменція, спричинена СНІД, судинна деменція та деменція за відсутності характерної гістології), хвороба Паркінсона та хорея Гентінгтона. Такі сполуки корисні також для лікування хронічних колітів, в тому числі хвороби Крона. Крім того, сполуки

згідно з винаходом корисні для лікування болів (в тому числі гострих болів та хронічних болів), ксеростомії (сухості в роті), захворювання тіла Леві (в тому числі дифузного захворювання тіла Леві), афазії (в тому числі первинної афазії та синдромів первинної афазії) та гіпотензивних синдромів.

Згідно з іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує способи лікування розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами, який включає введення в організм пацієнта, котрий потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I. Тобто цей винахід пропонує застосування сполуки Формули I або її фармацевтичної композиції для виготовлення лікарського засобу для лікування розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами. Цей винахід пропонує також сполуку Формули I для застосування в терапії.

В цьому описі перелічені нижче терміни мають нижчевказані значення:

Термін "галоген" означає атом хлору, фтору, брому або йоду.

Термін "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл" означає алкіл нормальної або розгалуженої будови, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, і охоплює метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, втор-бутил, ізобутил та трет-бутил. Термін "C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкіл" охоплює циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил та циклооктил.

Термін "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа" означає алкіл нормальної або розгалуженої будови, який містить від 1 атому до 4 атомів вуглецю, приєднаний до атома кисню, і охоплює метоксигрупу, етоксигрупу, н-пропоксигрупу, ізопропоксигрупу, н-бутоксигрупу, ізобутоксигрупу, втор-бутоксигрупу та трет-бутоксигрупу.

Термін "гетероарил" вживається для позначення стабільного ненасиченого п'яти- або шестичленного циклу, який містить 1 гетероатом або 2 гетероатоми, вибрані з групи, до якої входять азот, кисень та сірка. Прикладами гетероарилів є піридиніл, піримідиніл, піразиніл, піроліл, оксазоліл, ізоксазоліл, імідазоліл, тіазоліл, піридазиніл, фурил, тієніл тощо. Гетероарилами, яким віддається перевага, є тієніл, піридиніл та фурил.

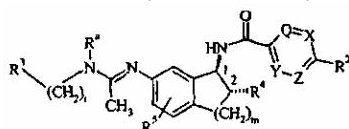
Сполуки згідно з цим винаходом утворюють фармацевтично прийнятні солі кислот із різноманітними органічними та неорганічними кислотами, до яких належать фізіологічно прийнятні солі, які часто застосовують у фармацевтичній хімії. Такі солі також охоплюються цим винаходом. "Фармацевтично прийнятні солі" одержують із фармацевтично прийнятних кислот, добре відомих у галузі. До таких солей належать фармацевтично прийнятні солі, перелічені в [Journal of Pharmaceutical Science. 66. 2-19 (1977)], відомі фахівцям. До типових неорганічних кислот, які використовують для одержання таких солей, належать хлористоводнева, бромистоводнева, йодистоводнева, азотна, сірчана, фосфорна, гіпофосфорна, метафосфорна, пірофосфорна тощо. Можуть бути застосовані також солі, що є похідними органічних кислот, наприклад, аліфатичних моно- та дикарбонових кислот, фенілзаміщених алкілкарбонових кислот, гідроксіалкілкарбонових та гідроксіалкілендикарбонових кислот, ароматичних кислот, аліфатичних та ароматичних сульфокислот. Таким чином, до таких фармацевтично прийнятних солей належать хлорид, бромід, йодид, нітрат, ацетат, фенілацетат, трифторацетат, акрилат, аскорбат, бензоат, хлорбензоат, динітробензоат, гідроксibenзоат, метоксибензоат, метилбензоат, о-ацетоксибензоат, ізобутират, фенілбутират, α-гідроксибутират, бутин-1,4-дикарбоксилат, гексин-1,4-дикарбоксилат, капроат, каприлат, цинамат, цитрат, формиат, фумарат, гліколят, гептаноат, гіпурат, лактат, малат, малеат, гідроксималеат, малонат, манделат, мезилат, нікотинат, ізонікотинат, оксалат, фталат, терефталат, пропіонат, пропіонат, фенілпропіонат, саліцилат, себацінат, сукцинат, суберат, бензолсульфонат, п-бромбензолсульфонат, хлорбензолсульфонат, етилсульфонат, 2-гідроксіетилсульфонат, метилсульфонат, нафталін-1-сульфонат, нафталін-2-сульфонат, нафталін-1,5-дисульфат, п-толуолсульфонат, ксилонсульфонат, тартрат тощо.

Цей винахід охоплює стереоізомери та таутомери сполук Формули I. Для позначення конкретних ізомерів та відносної стереохімічної конфігурації в описі застосовуються позначення (R)- та (S)- за Каном-Прелогом-Інгольдом і позначення цис- та транс- для відносних стереохімічних конфігурацій.

Як у випадку будь-яких фармацевтично активних сполук, деяким групам сполук віддається перевага при їх кінцевому застосуванні. Нижче подано визначення груп сполук, яким віддається перевага.

а) Коли R<sup>4</sup> не є водень, перевага віддається сполукам, котрі мають стереохімічну транс-конфігурацію в положеннях 1 та 2.

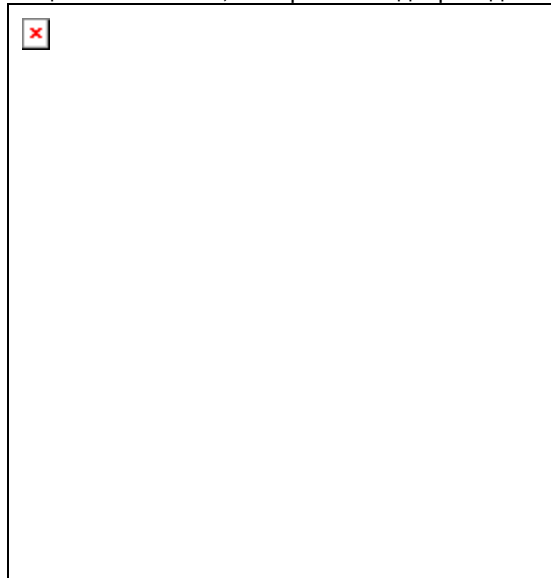
б) Коли R<sup>4</sup> не є водень, перевага віддається сполукам, котрі мають стереохімічну транс-конфігурацію в положеннях 1 та 2, показаних нижче.



- d)  $R^5$  є водень.
- e)  $R^4$  є гідроксил.
- f)  $t \in 1$ .
- g)  $m \in 1$ .
- h)  $R^a$  є метил,  $R^5$  є водень,  $R^4$  є гідроксил,  $t \in 1$  та  $m \in 1$ .
- i) Кожна з груп Q, X, Y та Z є  $CR^1$  за умови, що щонайменше дві групи з Q, X, Y та Z є CH.
- j)  $R^1$  є водень,
- k)  $R^1$  є галоїд.
- l)  $R^1$  є фтор.
- m) Кожна з груп Q, X, Y та Z є CH.
- n) Одна з груп Q, X, Y та Z є CF, а інші є CH.
- o) Q є CF і кожна з груп X, Y та Z є CH.
- q)  $R^2$  є феніл, факультативно заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл, трифторметил та ціан.
- r)  $R^2$  є феніл.
- s)  $R^3$  є феніл, факультативно заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, вибраними незалежно один від одного з групи, до якої входять галоїд, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупа, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкіл, трифторметил, ціан та нітрогрупа.
- t)  $R^3$  є феніл, заміщений одним замісником, вибраним із групи, до якої входять галоїд, трифторметил, ціан та нітрогрупа.
- u)  $R^3$  є феніл, однозаміщений галоїдом.
- v)  $R^3$  є феніл, однозаміщений фтором.
- w)  $R^3$  є феніл, однозаміщений фтором у пара-положенні.
- x)  $R^2$  є феніл,  $R^3$  є феніл, однозаміщений фтором у пара-положенні, і кожна з груп Q, X, Y та Z є CH.
- y)  $R^2$  є феніл,  $R^3$  є феніл, однозаміщений фтором у пара-положенні, Q є CF і кожна з груп X, Y та Z є CH.
- z)  $R^a$  є метил,  $R^5$  є водень,  $R^4$  є гідроксил,  $t \in 1$ ,  $m \in 1$ ,  $R^2$  є феніл і кожна з груп Q, X, Y та Z є CH.
- aa)  $R^a$  є метил,  $R^5$  є водень,  $R^4$  є гідроксил,  $t \in 1$ ,  $m \in 1$ ,  $R^2$  є феніл, Q є CF і кожна з груп X, Y та Z є CH.
- bb)  $R^a$  є метил,  $R^5$  є водень,  $R^4$  є гідроксил,  $t \in 1$ ,  $m \in 1$  і  $R^3$  є феніл, однозаміщений фтором у пара-положенні.

Вищезазначені пункти переліку можуть бути скомбіновані і визначати додаткові групи сполук, яким віддається перевага.

Сполуки Формули I, де  $R^4$  є гідроксил, одержують за методиками, описаними в Схемі A. У Схемі A всі замісники, якщо не обумовлено інше, відповідають поданим вище визначенням, а всі реагенти добре відомі та поширені в практиці.



Згідно зі Схемою A, стадія (a), сполуку Формули (1) піддають розділенню і одержують практично чисту сполуку Формули (2). Сполуку Формули (1) легко одержати способами, добре відомими та поширеними в практиці, наприклад, способами, [описаними в публікаціях РСТ заявок WO 97/25983, опублікованій 24 липня 1997р., та WO 99/04778, опублікованій 4 лютого 1999р.]. Термін "практично чистий" в цьому описі стосується енантіомерної чистоти. Бажану стереохімічну конфігурацію кінцевих сполук Формули I можна легко забезпечити в Схемі A на стадії (a) шляхом розділення сполук Формули (1). Подальше оброблення розділених сполук Формули (1) на стадіях (b), (c), (d) та факультативній стадії (e),

описаних нижче, забезпечує одержання практично чистих сполук Формули I. Можна одержати практично чисті сполуки Формули I, які мають енантіомерну чистоту понад 80%, у варіанті, якому віддається перевага, понад 90%, у варіанті, якому віддається більша перевага, понад 95%, у варіанті, якому віддається найбільша перевага, понад 97%. Сполуки Формули (1) можна розділити шляхом хіральної хроматографії або фракційної кристалізації діастереомерних солей кислот. Мається на увазі, що для цієї мети придатні численні солі такого типу. На практиці з'ясовано, що особливо придатними є ізомери мигдалевої кислоти.

Наприклад, сполуку Формули (1) вводять в контакт з вибраною кислотою. Як правило, можна застосовувати від приблизно 0,4 молярного еквівалента до значного надлишку згаданої вибраної кислоти, перевага віддається кількості від приблизно 0,4 молярного еквівалента до 1,5 молярного еквівалента, а більша перевага - кількості від приблизно 0,5 молярного еквівалента до 1,1 молярного еквівалента. Розділення, як правило, виконують шляхом кристалізації солі кислоти з розчину. Особливо придатними при цьому є розчинники типу нижчих спиртів, в тому числі метанол. Може видатися доцільним застосування незначних кількостей води спільно з вибраним розчинником (розчинниками) з метою виконання розділення в прийнятному об'ємі. Застосування протирозчинника також може бути доцільним. В цьому описі термін "протирозчинник" означає розчинник, в якому сіль розчиняється значно гірше порівняно з іншим вибраним розчинником (розчинниками). В разі застосування протирозчинника він переважно є змішуваним з іншим вибраним розчинником (розчинниками). До придатних протирозчинників належать прості ефіри, наприклад, діетиловий ефір, метил-трет-бутиловий ефір тощо, та нижчі алкілацетати, наприклад, метилацетат, етилацетат, ізопропілацетат, пропілацетат, ізобутилацетат, втор-бутилацетат, бутилацетат, амілацетат, ізоамілацетат тощо, а також алкани, наприклад, пентан, гексан, гептан, циклогексан тощо. В разі використання рацемічних сумішей слід додержуватися обережності при застосуванні протирозчинників для уникнення кристалізації небажаної діастереомерної солі.

Як правило, кристалізацію виконують при початковій температурі від приблизно 40°C до температури кипіння вибраного розчинника (розчинників). Потім суміш охолоджують, і одержують сіль. Може бути доцільним внесення затравки. Перевага віддається повільному охолодженню кристалізаційного розчину. Найбільш зручно охолоджувати кристалізаційну суміш до температури від температури навколишнього середовища до приблизно -20°C. Сіль можна відділити, застосовуючи способи, добре відомі в практиці, в тому числі фільтрування, декантацію, центрифугування, випаровування, сушіння тощо. Сполуки Формули (2) можна використовувати безпосередньо в формі солей з вибраними кислотами. За альтернативним варіантом, сполуку Формули (2) перед використанням можна виділити в формі солі іншої кислоти після кислотного обміну або у формі основи шляхом екстракції в основних умовах способами, добре відомими та поширеними в практиці.

Для фахівця зрозуміло, що зображена сполука Формули (2) має транс-конфігурацію в положеннях 1 та 2 інданового циклу. З таких транс-сполук легко одержати цис-сполук шляхом введення групи захисту аміну, інвертування гідроксильного центра та подальшого відщеплення групи захисту в разі необхідності. Відомі численні способи, які забезпечують інвертування гідроксильного центра, наприклад, реакція Міцунобу з придатними карбоновими кислотами, в тому числі з оцтовою кислотою та бензойною кислотою, з подальшим гідролізом.

На Схемі A, стадія (b), зображено утворення сполуки Формули (3). Зрозуміло, що сполука Формули (3) може бути сполукою, де R є групою, котру бажано одержати в кінцевому продукті Формули I згідно з поданим вище визначенням. Група R може також бути сполучена з карбонілом і утворювати групу захисту, наприклад, t-BOC (трет-бутилоксикарбоніл), яку можна пізніше відщепити перед введенням групи R, котру бажано одержати в кінцевому продукті Формули I. Вибір та застосування придатних груп захисту є добре відомими та поширеними в практиці операціями [дивись Т.Гріні, "Групи захисту в органічному синтезі" - *Protecting Groups in Organic Synthesis*, by Theodora Greene (Wiley Interscience)].

Наприклад, коли R є групою, котру бажано мати в складі кінцевого продукту, реакції сполучення, ілюстровану стадією (b), виконують із застосуванням придатної кислоти або одержаного з неї галоїдангідриду. До придатних кислот належать різноманітні заміщені бензойні кислоти та галоїдангідриди таких кислот, гетероарилкарбонові кислоти та галоїдангідриди таких кислот, а також різноманітні біарилкарбонові кислоти та галоїдангідриди таких кислот. Прикладами є біфенілкарбонова кислота та 3-фторбіфеніл-4-карбонова кислота.

Наприклад, сполуку Формули (2) вводять в контакт з придатною кислотою і одержують сполуку Формули (3). Такі реакції сполучення широко застосовуються в синтезі пептидів, і їх можна виконувати способами, застосовуваними в цій галузі. Наприклад, для сприяння такому ацилюванню можна використовувати добре

відомі агенти сполучення, наприклад, прищеплені до смол реагенти та карбодііміди із застосуванням або без застосування добре відомих домішок, наприклад, N-гідроксисукциніміду, 1-гідроксибензотриазолу тощо. Реакцію зручно виконувати в інертному апротонному полярному розріджувачі, наприклад, в диметилформаміді (ДМФ), хлористому метилені (дихлорметані), хлороформі, ацетонітрилі, тетрагідрофурані (ТГФ) тощо. В типових випадках цю реакцію виконують при температурах від приблизно 0°C до приблизно 60°C; необхідна тривалість реакції становить у типових випадках від приблизно 1год. до приблизно 24год. Після завершення реакції продукт Формули (3) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

За альтернативним способом, сполуку Формули (2) вводять у контакт із галоїдангідридом придатної кислоти, і одержують сполуку Формули (3). Такі галоїдангідриди є комерційно доступними або можуть бути легко одержані з придатних кислот способами, добре відомими в практиці, наприклад, дією трихлористого фосфору, трибромистого фосфору, оксихлориду фосфору, п'ятихлористого фосфору, тіонілхлориду, тіонілброміду або оксалілхлориду, у присутності або за відсутності незначної кількості диметилформаміду, в інертному розчиннику, наприклад, в толуолі, хлористому метилені або хлороформі, при температурі від приблизно 0°C до 80°C. Реакцію проводять у типових випадках протягом часу в межах від 1год. од 24год. Одержаний галошангідрид кислоти можна виділити та очистити або часто використати безпосередньо, тобто з відділенням та/або очищенням або без цих операцій. При проведенні реакцій сполучення, як правило, використовують придатну основу для зв'язування кислоти, що вивільнюється при реакції. До придатних для цього основ належать, наприклад, гідроксид натрію, гідроксид калію, піридин, триетиламін, N,N-діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Реакцію звичайно проводять в розчиннику, наприклад, в хлористому метилені, хлороформі, тетрагідрофурані тощо, або в умовах реакції Шоттена-Баумана, в суміші розчинників, наприклад, хлористого метилену, етилацетату, толуолу та води. В типових випадках реакцію сполучення виконують при температурах від приблизно -20°C до приблизно 80°C; необхідна тривалість реакції становить у типових випадках від приблизно 1год. до приблизно 24год. Після завершення реакції продукт Формули (3) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

На Схемі А, стадія (с), зображено відновлення нітрогрупи з одержанням сполуки Формули (4). Таке відновлення можна виконувати різноманітними способами, добре відомими в практиці.

Наприклад, сполуку Формули (3) можна піддати гідруванню з застосуванням каталізатора, наприклад, паладію на вугіллі, і одержати сполуку Формули (4). Таке гідрування в типових випадках виконують у розчиннику, і для цієї мети придатні різноманітні розчинники, наприклад, метанол, етанол, ізопропанол, тетрагідрофуран, етилацетат або їх суміші. Гідрування можна виконувати при початковому тиску водню 20-180 фунтів на кв. дюйм (137-1241кПа). В типових випадках реакцію проводять при температурах від приблизно 0°C до приблизно 60°C. Необхідна тривалість реакції становить у типових випадках від приблизно 1год. до приблизно 3 діб. Продукт можна виділяти та очищати способами, добре відомими в практиці, наприклад, фільтруванням, екстракцією, випаровуванням, розтиранням, осадженням, хроматографією та перекристалізацією.

Згідно зі Схемою А, стадія (d), сполуку Формули (4) вводять в контакт із придатним агентом утворення амідину, і одержують сполуку Формули I. До придатних агентів утворення амідину належать трифлат 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімонію та йодид 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімонію. Для фахівця зрозуміло, що відповідні агенти утворення амідину можуть бути одержані попередньо або, за бажанням, *in situ*.

Наприклад, сполуку Формули (4) вводять в контакт із придатним агентом утворення амідину, взятим в кількості приблизно 1-3екв. Реакцію проводять у типових випадках в безводному розчиннику, наприклад, в хлористому метилені, толуолі або тетрагідрофурані, при температурі від приблизно -20°C до 50°C. Реакцію виконують із застосуванням придатної основи, наприклад, піридину, колідину або триетиламіну. Необхідна тривалість реакції становить у типових випадках від 1год. до 18год. Продукт можна виділяти та очищати способами, добре відомими в практиці, наприклад, гасінням, фільтруванням, екстракцією, випаровуванням, розтиранням, осадженням, хроматографією та перекристалізацією.

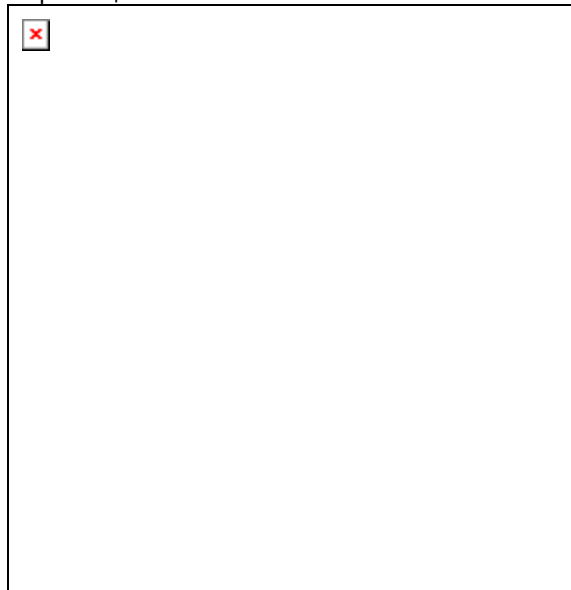
Як легко зрозуміти, якщо R є групою захисту, введеною на стадії (b), то можна відщепити цю групу захисту після виконання стадії (d), і сполучити одержаний амін із придатною кислотою або галоїдангідридом кислоти, як також описано для стадії (b), і одержати сполуку Формули I.

Деякі сполуки Формули I є проміжними продуктами для інших кінцевих сполук

Формули I. Наприклад, коли  $R^2$  є йод, для заміни йоду як рухомої групи та введення іншої групи  $R^2$ , котру бажано мати в кінцевому продукті, можна застосувати інший реагент, наприклад, 2-(трибутилстаніл)тіофен або 2-(трибутилстаніл)піридин.

Згідно зі Схемою А, на факультативній стадії (е), не показаній на схемі, одержують сіль сполуки Формули I із кислотою, використовуючи фармацевтично прийнятну кислоту. Одержання солей кислот добре відоме та поширене в практиці.

Сполуки Формули I, де  $R^4$  є водень, одержують зі сполук Формули (3) або зі сполук Формули (2) з захищеною аміногрупою шляхом відщеплення гідроксилу. Такі реакції відщеплення гідроксилу легко виконувати, застосовуючи способи, добре відомі в практиці, наприклад, способи, описані Лароком [Larock, Comprehensive Organic Transformations, с. 44-52 (1999)]. За альтернативним варіантом сполуки Формули I, де  $R^4$  є водень, одержують за методиками, ілюстрованими Схемою В. У Схемі В всі замісники, якщо не обумовлено інше, відповідають поданим вище визначенням, а всі реагенти добре відомі та поширені в практиці.



На Схемі В, стадія (а), показано відновлювальне амінування сполуки Формули (5) з одержанням сполуки Формули (6). Такі реакції відновлювального амінування виконують у різноманітних умовах. Реакцію, зображену на Схемі В, стадія (а), можна виконувати з використанням аміаку або захищеного аміну, наприклад, бензиламіну, дибензиламіну, тощо, з подальшим відщепленням групи захисту для одержанням сполуки Формули (6).

Наприклад, сполуку Формули (5) вводять у реакцію з надлишком аміаку та ціанборгідриду натрію, і одержують сполуку Формули (6). Як добре відомо в практиці, може бути доцільним моніторинг та регулювання рН в процесі таких реакцій. Реакцію проводять у розчиннику, наприклад, в метанолі, етанолі, ізопропанолі та воді або в їхніх сумішах. В типових випадках цю реакцію виконують при температурах від приблизно 0°C до приблизно 60°C; необхідна тривалість реакції становить у типових випадках від приблизно 1 год. до приблизно 24 год. Після завершення реакції продукт Формули (6) виділяють звичайними способами, в тому числі екстракцією, осадженням, хроматографією, фільтруванням, розтиранням, кристалізацією тощо.

Стадії (b), (c), (d) та факультативну стадію (е) за Схемою В виконують способами, описаними для стадій (b), (c), (d) та факультативної стадії (е) за Схемою А, і одержують сполуку Формули I.

Сполуки Формули I, де  $R^4$  є фтор, одержують зі сполук Формули (3) або зі сполук Формули (2) із захищеною аміногрупою, застосовуючи способи галоїдування, добре відомі в практиці, наприклад, способи, описані Лароком [Larock, Comprehensive Organic Transformations, с. 689-701 (1999)].

Цей винахід додатково ілюстровано поданими нижче прикладами та методиками підготовчих синтезів. Ці приклади та методики підготовчих синтезів мають лише ілюстративний характер і не призначені для обмеження обсягу винаходу.

Терміни, застосовані в прикладах та методиках підготовчих синтезів, якщо не обумовлено інше, мають загальноживані значення. Наприклад, "°C" означає градуси за Цельсієм; "M" означає молярність; "ммоль (mmol)" означає кількість мілімоль; "г (g)" означає грами; "мл (mL)" означає мілілітри; "т.пл. (tr)" означає температуру плавлення; "розеол" означає насичений водний розчин хлориду

натрію; тощо. В характеристиках  $^1\text{H}$ -ЯМР всі значення хімічних зсувів, якщо не обумовлено інше, подано в  $\delta$  (млн $^{-1}$ ).

Методики сполучення

Спосіб А

2'-хлорбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують метил-4-бромбензоат (1,0г, 4,65ммоль), 2-хлорфенілборну кислоту (799мг, 5,1ммоль),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (51мг, 0,46ммоль) та карбонат натрію (1,5г, 13,9ммоль) в ДМФ (20мл) та воді (2,0мл) при перемішуванні. Продувають реакційну суміш аргонном, додають трифенілфосфін (61мг, 0,23ммоль) і знову продувають аргонном. Встановлюють закрити реакційну посудину в масляну баню, де підтримують температуру 80°C, і перемішують протягом 1год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією одержують метиловий складний ефір 2'-хлорбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Розчиняють очищений складний ефір в ТГФ (0,25М), і додають такий самий об'єм 1М NaOH. Інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 15год. Після завершення цієї операції підкислюють реакційну суміш концентрованою HCl і екстрагують етилацетатом. Після випаровування розчинника одержують 762мг (67%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (MS) (m/e) 231,1 (М). Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

6-(2-хлорфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 233,9 (МН $^+$ )
6-(2,4-дифторфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 235,9 (МН $^+$ )
6-фенілпіридин-3-карбонової кислоти метиловий складний ефір	MS 214,1 (МН $^+$ )
6-(2-метилфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 214,0 (МН $^+$ )
2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 265,2 (М)
2-метилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 211,3 (М)
3-фторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 215,1 (М)
2',6'-дихлорбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 264,9 (М)
2',6'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 233,1 (М)
2'-метоксибіфеніл-4-карбонова кислота	MS 227,0 (М)
3,4'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 233,1 (М)
3,2'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 233,1 (М)
3-хлорбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 231,1 (М)
4-(тієн-2-іл)феніл-1-карбонова кислота	MS 203,1 (М)
4'-фторбіфеніл-4-карбонова кислота (гідроліз в діоксані при 60°C)	MS 214,9 (М)
3'-фторбіфеніл-4-карбонова кислота (гідроліз в діоксані)	MS 215,0 (М)
3'-ціанбіфеніл-4-карбонова кислота (гідроліз LiOH в діоксані)	MS 222,0 (М)

Спосіб В

5-фенілпіразин-2-карбонова кислота

Змішують метиловий складний ефір 5-хлорпіразин-2-карбонової кислоти (626мг, 3,64ммоль), фенілборну кислоту (666мг, 5,45ммоль), фторид цезію (55мг, 0,36ммоль) та  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (964мг, 9,09ммоль) в ДМФ (5мл) та воді (5мл) при перемішуванні. Гетерогенну реакційну суміш при доступі повітря вміщують в масляну баню, де підтримують температуру 80°C. Після 5-хвилинного нагрівання додають однією порцією  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (81мг, 0,36ммоль) і перемішують до зміни кольору реакційної маси на чорний. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією одержують метиловий складний ефір 2-фенілпіримідин-5-карбонової у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Розчиняють очищений складний ефір в ТГФ (0,25М), і додають такий же об'єм 1М NaOH. Інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 15год. Після завершення цієї операції підкислюють реакційну суміш концентрованою HCl і екстрагують

етилацетатом. Після випаровування розчинника одержують 63мг (8%) вказаної в заголовку сполуки. <sup>1</sup>H ЯМР (DMSO): 9,37 (s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,23-8,21 (m, 2H), 7,57-7,77 (m, 3H).

Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

2'-фтор-6'-трифторметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 283,1 (M)
3,2',4'-трифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 251,1 (M)
4'-фтор-2'-метоксибіфеніл-4-карбонова кислота	MS 245,1 (MH)
3-хлор-2',4'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 267,1 (M)
4'-фтор-2'-метилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 229,0 (M)
4'-трифторметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 265,1 (M)
2-фтор-4-(тієн-2-іл)феніл-1-карбонова кислота	MS 221,1 (M)

#### Спосіб С

##### 3',4'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують 3,4-дифторфенілборну кислоту (1,0г, 5,2ммоль), метил-4-бромбензоат (0,241г, 1,73ммоль), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,019г, 0,086ммоль), тетрабутиламонійбромід (0,111г, 0,345ммоль) та фосфат натрію (0,733г, 3,454ммоль). Продувають реакційну посудину аргоном, і додають до реакційної суміші безводний ДМФ (20мл). Нагрівають закрити реакційну посудину при 120°C із перемішуванням до завершення реакції. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією одержують метиловий складний ефір 3',4'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Розчиняють очищений складний ефір в діоксані (45мл), і додають такий же об'єм 1 М водного розчину NaOH. Нагрівають реакційну посудину при 60°C із перемішуванням до завершення реакції. Видаляють розчинник випаровуванням. Залишок розчиняють в дихлорметані і промивають 1-н. водною хлористоводневою кислотою. Органічний розчин сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують, одержуючи 0,048г (12%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 235 (M<sup>+</sup>). Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

6-(2-фторфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 218,0 (MH <sup>+</sup> )
3', 5' -диметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 225,0 (M)
3',5'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 233,0 (M)
3',5'-дихлорбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 267,1 (M <sup>+</sup> )
3'-хлорбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 230,9 (M)
2',3'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 264,9 (M)
4'-хлорбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 230,9 (M)

#### Спосіб D

##### 2',4',6'-триметилбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують 1-йод-2,4,6-триметилбензол (2,966г, 12,05ммоль), 4-карбоксифенілборну кислоту (1,0г, 6,026ммоль), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,0067г, 0,005ммоль), тетрабутиламонійбромід (0,388г, 1,2055ммоль) та фосфат натрію (2,557г, 12,05ммоль). Продувають реакційну посудину аргоном, і додають до реакційної суміші безводний ДМФ (20мл). Нагрівають закрити реакційну посудину при 120°C з перемішуванням до завершення реакції, яке визначають за даними хроматографії в тонкому шарі (ТШХ). Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури. Додають до реакційної суміші метилйодид (1,0мл, 36,63ммоль), і продовжують перемішування до завершення реакції. Розбавляють реакційну суміш етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією на колонці одержують метиловий складний ефір 2',4',6'-триметилбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Розчиняють очищений складний ефір в діоксані (45мл) та воді (5мл), яка містить 5екв. LiOH, при перемішуванні при 60°C. Після завершення реакції розчинник випаровують,



підкислюють реакційну суміш хлористоводневою кислотою і екстрагують етилацетатом. Органічний розчин сушать над  $MgSO_4$ , фільтрують і випаровують, одержуючи 0,023г (16%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 239,1 (M<sup>+</sup>).

Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

2',4',6'-трифторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 251,0 (M <sup>+</sup> )
2'-фтор-4'-трифторметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 283,0 (M <sup>+</sup> )

#### Спосіб E

##### 2',4'-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують 4-карбометоксибенілборну кислоту (1,021г, 5,67ммоль), 1-бром-2,4-дифторбензол (1,000г, 5,181ммоль),  $Pd(OAc)_2$  (0,113г, 0,50ммоль), трифенілфосфін (0,149г, 0,505ммоль) та карбонат натрію (1,664г, 0,568ммоль). Продувають реакційну посудину аргонном. Додають при перемішуванні ДМФ (20мл) і воду (2,0мл). Встановлюють закрити реакційну посудину в масляну баню, де підтримують температуру 80°C, і перемішують протягом 24год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над  $MgSO_4$ , фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією на колонці одержують метиловий складний ефір 2',4'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Розчиняють очищений складний ефір в діоксані (5мл) і додають 5M NaOH (1мл). Інтенсивно перемішують при 50°C протягом 15год. Після завершення цієї операції підкислюють реакційну суміш концентрованою HCl і екстрагують етилацетатом. Після випаровування розчинника одержують 300мг (24,7%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 233,0 (M<sup>+</sup>).

#### Спосіб F

##### 6-(2,6-дифторфеніл)піридин-3-карбонова кислота

Розчиняють метиловий складний ефір 6-хлорпіридин-3-карбонової кислоти (6,86г, 40ммоль) в толуолі (100мл) і нагрівають до 90°C. Додають кількома порціями оксибромід фосфору (25г, 87ммоль), і продовжують нагрівання протягом 3год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури і виливають у воду з льодом. Екстрагують реакційну суміш етилацетатом, і знову промивають органічний екстракт водою, а потім розчином  $NaHCO_3$ . Об'єднують органічні фази, сушать над  $MgSO_4$ , фільтрують і випаровують, одержуючи тверду речовину оранжевого кольору (8,1г, 94%), яка, за даними <sup>1</sup>H-ЯМР, являє собою суміш (8:1) метилового складного ефіру 6-бромпіридин-3-карбонової кислоти з метиловим складним ефіром 6-хлорпіридин-3-карбонової кислоти.

Суміш, одержану, як описано вище (0,225г, 1,04ммоль), змішують із гексаметилдіоловом (0,375г, 1,15ммоль),  $Pd(OAc)_2$  (21мг, 0,09ммоль) та трифенілфосфіном (25мг, 0,09ммоль) в толуолі (5мл). Продувають суміш азотом і перемішують при 80°C протягом 18год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури. Додають розчин 1-бром-2,6-дифторбензолу (250мг, 1,29ммоль) в толуолі (1мл), а потім  $Pd(OAc)_2$  (21мг, 0,09ммоль) та трифенілфосфін (25мг, 0,09ммоль). Продувають суміш азотом і перемішують при 80°C протягом додаткових 18год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури. Випаровують розчинник, і очищують залишок хроматографією на колонці (діоксид кремнію, 10% етилацетату в гексані), одержуючи 50мг (вихід 20%) етилового складного ефіру 6-(2,6-дифторфеніл)піридин-3-карбонової кислоти. Гідролізують складний ефір 1-н. розчином гідроксиду натрію (0,22мл, 0,22ммоль) в метанолі (3мл) при кімнатній температурі протягом 3 діб. Видаляють леткі компоненти у вакуумі, і змішують залишок з 1-н. розчином хлористоводневої кислоти. Відділяють білу тверду речовину фільтруванням, промивають водою і сушать у вакуумі, одержуючи 30мг (вихід 63%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 235,9 (M<sup>+</sup>).

#### Спосіб G

##### 3-фторбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують метил-2-фтор-4-бромбензоат (1,25г, 5,36ммоль), фенілборну кислоту (1,30г, 10,72ммоль) та CsF (2,02г, 13,40ммоль) в ДМФ (25мл) та воді (3,0мл) при перемішуванні. Гетерогенну реакційну суміш при доступі повітря вміщують в масляну баню, де підтримують температуру 80°C. Після 5-хвилинного нагрівання додають однією порцією  $Pd(OAc)_2$  (120мг, 0,536ммоль) і перемішують до зміни кольору реакційної маси на чорний. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічний розчин промивають водою, сушать над  $MgSO_4$ , фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією на колонці одержують метиловий складний ефір

3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини. Розчиняють очищений складний ефір в ТГФ (0,25М) і додають такий же об'єм 1М NaOH. Інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 15 год. Після завершення цієї операції підкислюють реакційну суміш концентрованою HCl і екстрагують етилацетатом. Після випаровування розчинника одержують 965 мг (84%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 214,9 (М).

Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

3-фтор-2'-метилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 229,0 (М)
2'-хлор-3-фторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 205,1 (М)
3-фтор-2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 283,1 (М)

#### Спосіб Н

##### 2-фтор-6-фенілпіридин-3-карбонова кислота

Розчиняють 2,6-дифторпіридин (5,0 мл, 5,51 ммоль) в безводному ТГФ (30 мл) і охолоджують до -40°C. Додають крапля за краплею розчин феніллітію (1,8 М в гексані, 30,6 мл) протягом 5 хв. Перемішують одержану реакційну суміш пурпурового кольору при -40°C протягом 30 хв. і нагрівають до кімнатної температури. Гасять реакційну суміш водою, і екстрагують розчин кілька разів етилацетатом. Об'єднують органічні екстракти, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують із нанесенням на силікагель. Після очищення флеш-хроматографією на колонці одержують 2-фтор-6-фенілпіридин (1,0 г, 12%) у вигляді масла жовтого кольору.

Охолоджують розчин діізопропіламід літію (LDA) (3,46 ммоль) в безводному ТГФ (6 мл) до -78°C. До охолодженого розчину LDA додають через канюлю розчин 2-фтор-6-фенілпіридину в безводному ТГФ (6 мл). Перемішують при -78°C протягом 30 хв., після чого барботують через розчин вуглекислий газ протягом 10 хв. Дають реакційній суміші нагрітись до кімнатної температури і продувають аргоном. Екстрагують суміш 1М NaOH, і відкидають органічну фазу. Водний шар підкислюють концентрованою HCl і екстрагують етилацетатом. Органічний шар сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують, одержуючи вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору (405 мг, 65%). Мас-спектр (m/e) 216,1 (М).

#### Спосіб J

##### 3,5-дифторбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують 1-бром-3,5-дифторбензол (0,863 г, 7,50 ммоль) та фенілборну кислоту (1,22 г, 10,00 ммоль) і обробляють в умовах, вказаних у Спосібі Г, одержуючи 1,3 г 3,5-дифторбіфенілу.

Неочищений 3,5-дифторбіфеніл (1,3 г, 6,83 ммоль) розчиняють в ТГФ (14 мл) і охолоджують до -78°C. Готують розчин тетраметилпiperидин-літію (LiTMP), для чого додають бутіллітій (1,6 М розчин в гексані, 5,33 мл) до тетраметилпiperидину (1,4 мл, 1,25 екв.) при -78°C в ТГФ (14 мл). Через канюлю додають охолоджений LiTMP до охолодженого 3,5-дифторбіфенілу і перемішують реакційну суміш при -78°C протягом 1 год. Барботують через розчин вуглекислий газ протягом 5 хв., нагрівають суміш до кімнатної температури, виливають у 50 мл 1М NaOH і екстрагують 50 мл етилацетату. Органічну фазу відкидають. Водний шар, що залишився, підкислюють концентрованою HCl і двічі екстрагують етилацетатом. Органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують, одержуючи 1,22 г вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (77%). Мас-спектр (m/e) 233,1 (М).

#### Спосіб К

##### 3,2',6'-трифторбіфеніл-4-карбонова кислота

Змішують метил-4-бром-2-фторбензоат (3,66 г, 15,75 ммоль), 4,4,5,5,4',4',5',5'-октаметил-2,2'-бі-1,3,2-діоксабороланіл (5,0 г, 19,68 ммоль) та ацетат калію (4,63 г, 47,19 ммоль) в ДМСО (40 мл), і продувають розчин аргоном. Додають  $\text{PbCl}_2$  (1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен)<sub>2</sub> (10% (моль), 1,35 г), і знов продувають розчин аргоном. Нагрівають реакційну суміш при 80°C протягом 3 год. і охолоджують до кімнатної температури. Промивають суміш водою, екстрагують етилацетатом і концентрують. Одержане масло чорного кольору знов розчиняють в суміші етилацетату з гексаном (1:2), фільтрують через нетовстий шар силікагелю і концентрують. Одержують метиловий складний ефір 2-фтор-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)бензойної кислоти у вигляді масла жовтого кольору.

Одержане жовте масло розчиняють в ацетоні (100 мл) і змішують з NaIO<sub>4</sub> (10,1 г, 47,25 ммоль), NH<sub>4</sub>OAc (3,63 г, 47,25 ммоль) і водою (50 мл) при кімнатній температурі. Перемішують при кімнатній температурі протягом 18 год., переносять у ділильну ліжку і кілька разів екстрагують етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують, одержуючи 3,0 г 3-фтор-4-карбометоксифенілборної кислоти у вигляді не зовсім білої твердої речовини.

Борну кислоту, одержану, як описано вище (800мг, 4,04ммоль), і 2,6-дифторбромбензол (1,17г, 6,06ммоль) вводять в реакцію сполучення за методикою, описаною для Способу G, і одержують 380мг вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 251,1 (M<sup>+</sup>).

#### Спосіб L

6-фенілпіридазин-3-карбонова кислота

6-фенілпіридазин-3-ол (5,0г, 29,06ммоль) розчиняють в толуолі (100мл) і нагрівають до 90°C. Додають кількома порціями оксибромід фосфору (25г, 87,19ммоль), і нагрівають реакційну суміш протягом 30хв. Одержаний розчин жовтого кольору охолоджують до кімнатної температури, виливають у воду з льодом і екстрагують етилацетатом. Органічні фази додатково промивають водою та 1M NaOH, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують, одержуючи тверду речовину жовтого кольору. Після перекристалізації з CHCl<sub>3</sub> одержують 2,17г 3-бром-6-фенілпіридазину.

3-бром-6-фенілпіридазин (1,0г, 4,25ммоль) змішують із ДМФ (5мл), MeOH (5мл), триетиламіном (1,18мл, 8,50ммоль) та Pd(OAc)<sub>2</sub> (76мг, 0,33ммоль) і вакуумують суміш. Додають 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен (235мг, 0,42ммоль), і знов вакуумують суміш. Барботують через розчин вуглекислий газ протягом 5хв., і створюють над реакційною сумішшю тиск вуглекислого газу 50 фунтів на кв. дюйм (345кПа). Одержаний розчин нагрівають при 50°C протягом 18год. Охолоджують суміш до кімнатної температури, розбавляють водою і екстрагують етилацетатом. Органічні фази сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують, випаровують із нанесенням на силікагель і піддають флеш-хроматографії на колонці.

Після гідролізу в умовах, описаних для Способу A, одержують 80мг вказаної в заголовку сполуки. <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 8,24 (d, 1H, J=8,8Гц), 8,18-8,15 (m, 2H), 8,0 (d, 1H, J=9,2Гц), 7,56-7,55 (m, 3H).

#### Спосіб M

6-(4-фторфеніл)піридин-3-карбонова кислота

Змішують метиловий складний ефір 6-бромпіридин-3-карбонової кислоти (1,03г, 4,78ммоль), 4-фторфенілборну кислоту (1,88г, 13,41ммоль) та фторид цезію (2,55г, 16,78ммоль) в ДМФ (25мл) та воді (4мл) при перемішуванні. Гетерогенну реакційну суміш при доступі повітря вміщують у масляну баню, де підтримують температуру 80°C. Після 5-хвилинного нагрівання додають однією порцією Pd(OAc)<sub>2</sub> (150мг, 0,67ммоль). Через 17год. реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом і фільтрують через нетовстий шар целіту з доданням додаткової кількості етилацетату. Органічну фазу промивають водою, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують. Після очищення флеш-хроматографією на колонці одержують метиловий складний ефір 6-(4-фторфеніл)піридин-3-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Очищений складний ефір розчиняють у ТГФ (0,25M) і додають такий самий об'єм 1M NaOH. Інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 15год. Після завершення реакції підкислюють реакційну суміш концентрованою HCl, і відділяють білий осад фільтруванням. Після висушування у вакуумі одержують 385мг (37%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 218,1 (M<sup>+</sup>).

Вказану нижче сполуку одержують практично, як описано вище.

6-(тієн-2-іл)піридин-3-карбонова кислота	MS 205,9 (M <sup>+</sup> )
--	----------------------------

#### Спосіб N

6-(4-фтор-2-метилфеніл)піридин-3-карбонова кислота

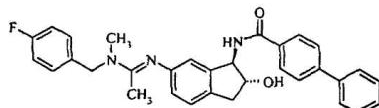
Змішують метиловий складний ефір 6-бромпіридин-3-карбонової кислоти (387мг, 1,79ммоль), 4-фтор-2-метилфенілборну кислоту (338мг, 2,19ммоль), Pd(OAc)<sub>2</sub> (40мг, 0,18ммоль), фторид цезію (27мг, 0,18ммоль) та карбонат натрію (570мг, 5,38ммоль) в ДМФ (6мл) та воді (6мл) при перемішуванні. Продувають реакційну суміш азотом, додають трифенілфосфін (47мг, 0,18ммоль) і знов продувають азотом. Закриту реакційну посудину вміщують у масляну баню, де підтримують температуру 80°C, і перемішують протягом 17год. Охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури і пропускають через нетовстий шар силікагелю. Промивають колонку дихлорметаном (100мл), а потім метанольно-водною сумішшю (100мл; 3 частини метанолу на 1 частину води). Випаровують об'єднані фракції у вакуумі, і суспендують твердий залишок у воді (10мл). Фільтрують для видалення чорної твердої домішки і підкислюють фільтрат 1-н. хлористоводневою кислотою до pH4. Утворюється білий осад, який відділяють фільтруванням і сушать, одержуючи 306мг (74%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 231,9 (M<sup>+</sup>).

Перелічені нижче сполуки одержують практично, як описано вище.

6-(2,4-дифторфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 236,0 (MH <sup>+</sup> )
6-(2-фторфеніл)піридин-3-карбонова кислота	MS 218,0 (MH <sup>+</sup> )
2'-фторбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 215,1 (M)
2'-метилбіфеніл-4-карбонова кислота	MS 211,2 (M)

#### Приклад 1-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти



Повільно додають розчин 375г (5,13моль, 1,12екв.) N-метилацетаміду в ТГФ (1,76л) до 224г (5,55моль, 1,2екв.) гідриду натрію (60% дисперсія в мінеральному маслі) у формі суспензії в ТГФ (8,75л). Через 30хв., після додавання 25% згаданого розчину, додають 875г (4,63моль, 1екв.) 4-фторбензилброміду і залишок розчинів N-метилацетаміду та 4-фторбензилброміду паралельно на протязі наступних 3год. Температуру підтримують на рівні нижче 40°C за допомогою водяної бані. Одержану суміш перемішують протягом ночі і виливають у суміш 20% NH<sub>4</sub>Cl (2,5л), води (6,5л) та етилацетату (9л). Розділяють шари, і піддають водний шар зворотній екстракції етилацетатом (4,5л, потім 2л). Органічні фази об'єднують і промивають водою (4л), а потім розсолем (7л). Органічний шар сушать (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і видаляють розчинник, одержуючи залишок. Цей залишок розчиняють в ацетонітрилі (7л) та гептані (1,75л). Розділяють шари і знов промивають ацетонітрильний шар гептаном (1,75л). Гептанові шари об'єднують і піддають зворотній екстракції ацетонітрилом (0,5л). Ацетонітрильні екстракти об'єднують і випаровують, одержуючи 0,814кг N-метил-N-(4-фторбензил)ацетаміду.

Розчиняють N-метил-N-(4-фторбензил)ацетамід (0,500кг, 2,76моль) в ТГФ (11,5л). Додають п'ятисірчистий фосфор (0,737кг, 1,65моль, 0,6екв.), і нагрівають суміш зі зворотним холодильником до кипіння протягом 1-2год. Після 5год кипіння дають суміші охолотитися до кімнатної температури, відділяють тверду фазу фільтруванням і промивають 12,5л ТГФ. Об'єднують фільтрат з таким самим фільтратом з окремої реакційної суміші і концентрують, одержуючи 0,978кг залишку. Розчиняють залишок і хроматографують на 2,7кг силікагелю, застосовуючи CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, і одержують 1,01кг твердої речовини. Цю речовину суспендують у хлористому метilenі (1л) протягом 15-30хв., додають гептан (5л), охолоджують суміш до 0-5°C і перемішують протягом 2год. Твердий продукт відділяють фільтруванням і сушать, одержуючи 0,814кг N-метил-N-(4-фторбензил)іоацетаміду.

До 2,30кг (11,6моль) N-метил-N-(4-фторбензил)ацетаміду додають 11,5л ацетонітрилу та 2,52кг (17,7моль, 1,5екв.) метилйодиду. Суміш нагрівають при 35°C протягом 21год. Концентрують суміш до половини об'єму в роторному випарнику і додають 14л метил-трет-бутилового простого ефіру (MTBE). Знов концентрують до половини об'єму і додають ще 14л MTBE. Охолоджують одержану суспензію до 0°C, відділяють твердий продукт фільтруванням і сушать, одержуючи 3,92кг 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-йодиду у вигляді білої твердої речовини.

До 6,20кг (35,0моль) 1,2-епокси-6-нітроіндану додають 85л концентрованого NH<sub>4</sub>OH та 28л води. Нагрівають суміш при 36°C протягом 21год. і дають їй охолотитися до кімнатної температури. Фільтрують реакційну суміш через шар вологи целіту (10кг), і промивають осад на фільтрі водою. До вологого осаду додають 155л метанолу, 1,3л води та 5,80кг (38,1моль, 1,09екв.) (S)-(+)-мигдалевої кислоти. Нагрівають суміш при 55°C протягом 2год. і фільтрують через фільтрувальний картридж, імпрегнований вугіллям. Зменшують об'єм фільтрату приблизно до 35л шляхом вакуумної дистиляції і додають 130л EtOAc. Зменшують об'єм приблизно до 65л шляхом вакуумної дистиляції. Охолоджують суміш до -8°C і перемішують протягом 8год. Фільтрують суспензію і сушать осад, одержуючи 7,6кг твердої речовини. Цю речовину суспендують у 30л метанолу і 0,3л води, і нагрівають суміш зі зворотним холодильником протягом 0,5год. Охолоджують суміш до 45°C протягом 0,5год. і перемішують протягом 12год., потім охолоджують до 22°C і перемішують протягом 10год. Твердий продукт відділяють фільтруванням і сушать, одержуючи 2,7кг (S)-манделату 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану.

(S)-манделат 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану (0,64кг, 1,85моль) додають до суміші толуолу (9,6л) та водного 1-н. NaOH (4,8л, 4,8моль, 2,6екв.). Через 1год. додають 4-біфенілкарбонілхлорид (0,44кг, 2,0моль, 1,1екв.) порціями протягом 20-30хв. Через 22год. відділяють тверду фазу фільтруванням і промивають поспідовно 0,5л толуолу, 2л води і 2л толуолу. Осад сушать, і одержують 0,74кг

(R)-(6-нітро-2-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти. До 1,914кг (R)-(6-нітро-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти, одержаного аналогічним чином, додають 38,2л етилацетату. Суспензію перемішують протягом 18год., відділяють тверду фазу фільтруванням і сушать, одержуючи 1,76кг (R)-(6-нітро-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини.

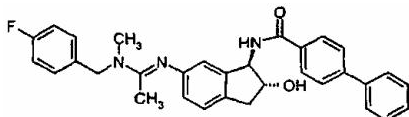
Змішують суспензію 0,176кг 10% Pd-C (50% вологості) та 1,7кг (R)-(6-нітро-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти в 17,5л ДМФ, і вміщують суміш в атмосферу водню під тиском 50 фунтів на кв. дюйм (345кПа). Через 19год. реакційну суміш фільтрують, додають частину розчину в ДМФ (5л) до води (10л), і перемішують одержану суспензію протягом 2год. Цю операцію повторюють двічі для перероблення всього об'єму реакційної суміші. Фільтрують усі суспензії спільно, і промивають одержаний осад на фільтрі водою (3×7л). Осад сушать, і одержують 1,42кг (R)-(6-аміно-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти.

(R)-(6-аміно-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти (0,969кг, 2,81моль) суспендують у ТГФ (9,7л) і додають 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-йодид (0,954кг, 2,81моль) та 4-диметиламінопіридин (34,5г, 0,281моль). Перемішують суміш протягом 24год. і видаляють розчинник у вакуумі. Одержану піну розчиняють в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12,5л), і промивають органічну фазу 1,0-н. HCl (1×4л і 1×3л), 1,0M NaOH (1×2,4л) і насиченим розчином NaCl (1×4л). Органічну фазу відділяють, сушать (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрують, і видаляють розчинник, одержуючи тверду речовину. Цю речовину розчиняють в ацетонітрилі (9л) при нагріванні до 35-40°C. Приблизно через 30хв. додають затравочні кристали, при цьому утворюється густа біла суспензія. Охолоджують суміш до -15°C і перемішують при цій температурі протягом 1-2год. Відділяють тверду фазу і сушать, одержуючи 1,10кг вказаної в заголовку сполуки у формі часткового сольвату з ацетонітрилом.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 7,90 (d, 2, J=8,6), 7,69 (d, 2, J=8,6), 7,63 (d, 2, J=8,2), 7,48 (t, 2, J=8,2, 7,6), 7,41 (d, 1, J=7,3), 7,24 (dd, 2, J=8,5, 5,2), 7,14 (d, 1, J=7,9), 7,04 (t, 2, J=8,7), 6,72-6,63 (m, 3), 5,31 (t, 1, J=5,6), 4,84 (brs, 1), 4,64 (dd, 2, J=21,4, 15,6), 4,54 (dd, 1, J=14,0, 7,9), 3,32 (dd, 1, J=15,6, 7,9), 3,01 (s, 3), 2,95 (dd, 1, J=15,7, 8,0), 1,97 (s, 3). Мас-спектр (m/z): 508,2 (M+1).

#### Приклад 2-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденамшо)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти



Змішують транс- 1-аміно-2-гідрокси-6-нітроіндан (20,2г, 0,10моль) та S-мигдалеву кислоту (16,7г, 0,11моль, 1,1екв.) в 173мл метанолу та 3,6мл води. Нагрівають зі зворотним холодильником до кипіння і потім додають 200мл етилацетату. Вносять затравку і дають охолотитися до 23°C. Після перемішування протягом 4год. при 23°C охолоджують і витримують при -3°C протягом 3год., потім фільтрують і промивають охолодженою сумішшю 40% метанолу з 60% етилацетату, і одержують тверду речовину. Цю речовину сушать у вакуумній шафі при 45°C протягом 16год., і одержують суміш діастереомерних солей у співвідношенні 59:41 з переважанням 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану.

Змішують суміш діастереомерних солей (59:41) з 35мл метанолу та 0,32мл води. Нагрівають приблизно до 64°C, дають охолотитися приблизно до 45°C і перемішують протягом 14год., а потім при 23°C протягом 14год., одержуючи тверду речовину. Цю речовину відділяють фільтруванням, промивають метанолом і сушать у вакуумній шафі при 45°C протягом 26год., одержуючи 2,64г (S)-манделату 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану високої енантіомерної чистоти. Мас-спектр високого розділення (m/z) 194,0691. ІЧ спектр (CHCl<sub>3</sub>) 1347, 1074см<sup>-1</sup>.

Змішують (S)-манделат 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану (40,2г, 116,1ммоль), 320мл води, 650мл етилацетату, 26,6г ди-трет-бутилдикарбонату (121,9ммоль, 1,05екв.) та додатково 200мл етилацетату. Додають крапля за краплею 120мл 1-н. водного розчину гідроксиду натрію (120ммоль, 1,03екв.). Через 15год. утворюється тверда фаза. Тверду речовину відділяють і промивають водою (тричі) і етилацетатом (тричі). Сушать і одержують 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-нітроіндан у вигляді білої твердої речовини (19,4г, 57%). Мас-спектр (m/z): 295 (M+1). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -122 (c=1, MeOH).

Змішують 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-нітроіндан (30,5г, 0,11моль), 800мл ТГФ, 800мл етилацетату і 6,3г 5% паладію на вугіллі. Гідрують при тиску водню 50 фунтів на кв. дюйм (345кПа) протягом 2год. Видаляють каталізатор фільтруванням, і випаровують розчинник, одержуючи 29,5г 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-аміноіндану. Мас-спектр (m/z): 265 (M+1). ІЧ

(KBr) 1699, 1625, 1535 $\text{cm}^{-1}$ .  $[\alpha]_D^{25} = -122$  ( $c=1$ , MeOH).

До розчину NaH (6,86г, 0,172моль, 60% у мінеральному маслі, 1,3екв.) в ТГФ (250мл) додають крапля за краплею розчин N-метилацетаміду (11,6г, 0,159моль, 1,2екв.) в ТГФ (90мл). Приблизно через 20хв. додають 4-фторбензилбромід (25г, 0,132моль). Перемішують протягом приблизно 62год., потім виливають суміш у воду з льодом (300мл) і екстрагують етилацетатом (400мл і 200мл). Органічні фази об'єднують і промивають водою (300мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують, одержуючи масло. Це масло розчиняють в ацетонітрилі і екстрагують гексаном для видалення мінерального масла; одержують 22,79г N-метил-N-(4-фторбензил)-ацетаміду: т.пл. 48-54°C;  $R_f=0,45$  (4% MeOH в хлористому метилени);  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,27-6,93 (m, 4), 4,5 (d, 2), 2,91 (s, 3), 2,14 (s, 3).

Змішують N-метил-N-(4-фторбензил)-ацетамід (364,8г, 2,01моль) з ТГФ (9л). Перемішують до розчинення, після чого додають п'ятисірчистий фосфор (537,7г, 1,21моль). Через 45хв. нагрівають суміш зі зворотним холодильником до кипіння. Через 3год. дають охолонути і перемішують протягом ночі, одержуючи тверду речовину. Відділяють тверду фазу фільтруванням, і промивають осад на фільтрі ТГФ (4л). Випаровують фільтрат, одержуючи залишок, розчиняють останній в хлористому метилени (500мл), і пропускають розчин через коротку колонку із силікагелем 60 (1,2кг), попередньо кондиціонованим гептаном. Елюювання виконують 4л суміші гептану із хлористим метиленом (1:1), а потім 100% хлористим метиленом; після відділення та висушування одержують 217,98г N-метил-N-(4-фторбензил)-іоацетаміду: т.пл. =99-104°C;  $R_f=0,42$  (хлористий метилен);  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,35-7,26 (m, 1), 7,14-6,96 (m, 3), 5,28 (s, 1,2) та 4,79 (s, 0,8), 3,42 (s, 1,2) та 3,15 (s, 1,8), 2,72 (s, 1,2) та 2,69 (s, 1,8). Примітка: Вважається, що часткові протони спричинені ротомерами.

Змішують N-метил-N-(4-фторбензил)-іоацетамід (14,03г, 0,0711моль) із хлористим метиленом (140мл) в атмосфері азоту і охолоджують у бані з льодяною водою. Крапля за краплею додають метил-трифторметансульфонат (9,66мл, 0,085моль, 1,2екв.). Через 15хв. відсувають охолоджувальну баню, і перемішують суміш протягом 2год. Видаляють розчинник у вакуумі, і одержують 25,89г (100%) 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-трифлату.

Змішують 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-трифлат (5г, 13,8ммоль), хлористий метилен (50мл) та 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-аміноіндан (3,65г, 13,8ммоль) в атмосфері азоту. Додають піридин (0,15мл). Через 2,5год. утворюється тверда фаза. Відділяють тверду речовину фільтруванням, промивають мінімальною кількістю хлористого метилену і сушать у вакуумній шафі, одержуючи 6,29г (79%) 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-(1-метил-N'-(4-фторбензил)-N'-метиламідино)індан-трифлату у вигляді білої твердої речовини. Т.пл. 123-132°C.

Охолоджують трифтороцтову кислоту (TFA, 66мл) у льодяній бані, і додають порціями 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-(1-метил-N'-(4-фторбензил)-N'-метиламідино)індан-трифлат (29,65г, 0,051моль) разом із 3мл хлористого метилену. Перемішують суміш у льодяній бані протягом 10хв., потім дають нагрітись до кімнатної температури і перемішують протягом 1,5год. Розподіляють реакційну суміш між хлористим метиленом (500мл) і льодяною водою (500мл). Додають 2М водний розчин гідроксиду натрію (450мл), і розділяють шари. Водний шар екстрагують хлористим метиленом (250мл), і об'єднані органічні фази промивають водою (300мл). Охолоджують органічний шар, додають 1-н. водний розчин гідроксиду натрію (76мл) і воду (76мл) і перемішують.

До N'-(3-аміно-2-гідроксіндан-5-іл)-N-(4-фторбензил)-N-метил-ацетамідину, одержаного, як описано вище, додають порціями 4-біфенілкарбонілхлорид (11,05г, 0,051моль, 1екв.). Додають додатково 50мл води. Через 2год. розділяють шари, екстрагують органічний шар водою (300мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і випаровують, одержуючи 27,06г вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої піни.

Після перекристалізації 10г вказаної в заголовку сполуки з ацетонітрилу (10мл/г) одержано 5,96 г вказаної в заголовку сполуки з т.пл. 103-111°C. Мас-спектр (m/z) 508 (M+1).

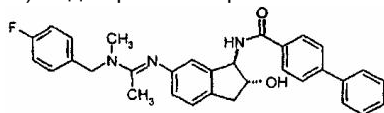
Після суспендування вказаної в заголовку сполуки, одержаної перекристалізацією, в 45мл етилацетату і 45мл гексану і перемішування протягом 16год. одержано вказану в заголовку сполуку з т.пл. 139-142°C.

Змішують вказану в заголовку сполуку з т.пл. 139-142°C (1г) з абсолютним етанолом (12мл). Нагрівають приблизно до 50°C до розчинення твердої речовини. Додають крапля за краплею деіонізовану воду (4,5мл), а потім затравочні кристали поліморфної форми, яка має т.пл. 150-152°C. Охолоджують протягом 1,5год. до приблизно 23°C, і одержують густу суспензію. Цю суспензію охолоджують у льодяній бані, фільтрують і сушать у вакуумній шафі при 50-60°C, одержуючи 0,76г вказаної в заголовку сполуки з т.пл. 150-152°C.

Для фахівця зрозуміло, що альтернативною назвою вказаної в заголовку сполуки є 6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2-гідрокси-1-біфеніламідоіндан.

## Приклад 2-2

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилшенаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти



Змішують (S)-манделат 1(R)-аміно-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану (50,0г, 0,144моль) з 750мл толуолу. Додають 375мл (0,375моль, 2,6екв.) 1-н. водного розчину гідроксиду натрію, а потім 470мл води. Перемішують протягом приблизно 22хв, після чого додають порціями 35,5г (0,159моль, 1,1екв.) 4-біфенілкарбонілхлориду протягом приблизно 6хв. Через 3,5год. одержану суспензію фільтрують, осад промивають на фільтрі толуолом, сушать у вакуумі при 50°C протягом 18год., і одержують 56,1г 1(R)-(4-біфенілкарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-нітроіндану. ІЧ (КВг, см<sup>-1</sup>): 3293, 1640, 1549, 1528, 1345, 1329, 1086, 739; мас-спектр високого розділення обчислено для C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 374,1267, знайдено: 374,1266.

Змішують 1(R)-(4-біфенілкарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-нітроіндан (55,7г, 550мл ДМФ і 2,8г каталізатора - 10% Pd/C. Гідрують при тиску водню 50 фунтів на кв. дюйм (345кПа) протягом 4,75год. при температурі навколишнього середовища. Фільтрують реакційну суміш, і розбавляють фільтрат 1200мл води, одержуючи суспензію. Перемішують суспензію протягом 30хв., фільтрують, промивають водою і сушать у вакуумі при 50°C. Змішують висушений продукт із приблизно 1 л води, і перемішують суспензію протягом 30хв., фільтрують, промивають водою і сушать у вакуумі при 50°C, одержуючи 45,4г (90%) 1(R)-(4-біфенілкарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-аміноіндану. ІЧ (КВг, см<sup>-1</sup>): 3584, 3364, 3277, 1632, 1543, 1326, 1073, 743; мас-спектр високого розділення обчислено для C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 344,4120; знайдено: 344,1525.

Змішують N-метил-N-(4-фторбензил)-ацетамід (364,8г, 2,01моль) з ТГФ (9л). Перемішують до розчинення, після чого додають п'ятисірчистий фосфор (537,7г, 1,21моль). Через 45хв. нагрівають суміш зі зворотним холодильником протягом 3год., охолоджують і перемішують протягом ночі, одержуючи тверду речовину. Відділяють тверду фазу фільтруванням, і промивають осад на фільтрі ТГФ (4л), випаровують фільтрат у вакуумі, одержуючи залишок, розчиняють останній в хлористому метилені (приблизно 500мл), і пропускають розчин через шар силікагелю 60 (1,2кг), попередньо кондиціонованого гептаном. Елюювання виконують 4л суміші гептану з хлористим метиленом (1:1), а потім 100% хлористим метиленом; одержують 217,98г N-метил-N-(4-фторбензил)тіоацетаміду (55%): т.пл.=99-104°C; R<sub>f</sub>=0,42 (хлористий метилен); <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) 7,35-7,26 (m, 1), 7,14-6,96 (m, 3), 5,28 (s, 1,2) та 4,79 (s, 0,8), 3,42 (s, 1,2) та 3,15 (s, 1,8), 2,72 (s, 1,2) та 2,69 (s, 1,8). Примітка: Вважається, що часткові протони спричинені ротомерами.

До суспензії N-метил-N-(4-фторбензил)тіоацетаміду (10г, 50,6ммоль) в ацетонітрилі (50мл) додають однією порцією метилйодид (10,76г, 75,8ммоль). Суміш нагрівають при 35°C протягом 46год., після чого охолоджують до приблизно 23°C. Зменшують об'єм реакційної суміші приблизно до 25мл шляхом випаровування, і додають метил-трет-бутиловий простий ефір (50мл). Знов зменшують об'єм суміші до 25мл шляхом випаровування і розбавляють додатковими 50мл метил-трет-бутилового простого ефіру, одержуючи тверду фазу. Охолоджують суміш до 0°C, відділяють твердий продукт фільтруванням, промивають 15мл охолодженого метил-трет-бутилового простого ефіру і сушать, одержуючи 16,89г 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-йодиду у вигляді твердої речовини жовтого кольору, т.пл. 142-150°C. Мас-спектр (іонізація електронним ударом): теоретичне значення для імінієвого фрагмента C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FNS 212; знайдено 212.

Змішують 1(R)-(4-біфенілкарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-аміноіндан (10,0г, 0,029моль), 4-диметиламінопіридин (DMAP) (0,4 г, 0,0032моль, 0,011екв.), 200мл ацетону та 1-метилтіо-1-метил-1-метил-N-(4-фторбензил)-1-метилімоній-йодид (10,8 г, чистота 96%, 0,0305моль, 1,05екв.). Через 6год. реакційну суміш концентрують, одержуючи піну. Змішують цю піну зі 120мл толуолу, перемішують при температурі навколишнього середовища протягом 19,5год., фільтрують і сушать у вакуумі при 50°C, одержуючи як залишок йодистоводневу сіль вказаної в заголовку сполуки, яка характеризується такими даними ЯМР: <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300МГц): δ 8,02 (d, J=9,0Гц, 2H); 7,82-7,93 (m, 1H); 6,90-7,69 (m, 14H); 4,85-5,25 (m, 2H); 4,60-4,80 (m, 2H); 3,45 (s, 2H); 3,00-3,20 (m, 2H); 2,60-2,75 (m, 1H); 2,10-2,35 (m, 4H).

Розчиняють згаданий залишок у 200мл хлористого метилену і екстрагують 200мл 1,0М водного розчину гідроксиду натрію, а потім 200мл розсолу. Органічний шар сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і випаровують у вакуумі, одержуючи 15г вказаної в заголовку сполуки.

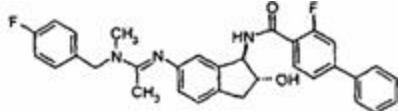
Змішують 5,0 г сполуки, одержаної, як описано вище, з 200мл хлористого метилену. Додають 1,00г вугілля типу DARCO, перемішують протягом 1год. і

фільтрують через шар матеріалу Hyflo. Випаровують у вакуумі, і одержують 4,0г залишку. Цей залишок розчиняють в абсолютному етанолі (приблизно 40мл), і додають деіонізовану воду (12мл), одержуючи тверду фазу. Нагрівають суспендовану тверду речовину при 55°C протягом 30хв., дають охолотитися до кімнатної температури і перемішують. Через 24год. фільтрують, промивають 10мл етанольно-водної суміші (10:3) і сушать у вакуумі, одержуючи 1,5г вказаної в заголовку сполуки з т.пл. 108-112°C.

Для фахівця зрозуміло, що альтернативною назвою вказаної в заголовку сполуки є 6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2-гідрокси-1-біфеніламідоіндан.

Приклад 3-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти



Змішують 4-бром-2-фторбензойну кислоту (10г, 45,7ммоль), метанол (100мл) та концентровану сірчану кислоту (5,0мл). Нагрівають зі зворотним холодильником. Через 16год. охолоджують до кімнатної температури і випаровують у вакуумі, одержуючи білу тверду речовину. Розчиняють цю речовину в етилацетаті (приблизно 40мл), екстрагують двічі порціями по 80мл насиченого водного розчину бікарбонату натрію і один раз 80мл розсолу, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і випаровують у вакуумі, одержуючи 9,32г (88%) метил-4-бром-2-фторбензоату у вигляді білої твердої речовини.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{d}_6\text{-DMSO}$ , 300МГц) 8,80 (t,  $J=8,4\text{Гц}$ , 1H), 7,72 (dd,  $J=10,8\text{Гц}$ , 1,8Гц, 1H), 7,54 (ddd,  $J=8,4\text{Гц}$ , 1,8Гц, 0,6Гц, 1H), 3,83 (s, 3H); ІЧ ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3010, 2995, 1723, 1603, 1484, 1438, 1406, 1294, 1277, 1095, 885; елементний аналіз обчислено для  $\text{C}_8\text{H}_6\text{BrFO}_2$ : C, 41,23; H, 2,60; знайдено: C, 40,97; H, 2,61.

Змішують метил-4-бром-2-фторбензоат (9,3г, 40,0ммоль), фенілборну кислоту (9,75г, 80,0ммоль) та фторид цезію (32,6г, 100,1ммоль), ДМФ (190мл) та деіонізовану воду (50мл). Нагрівають до 80°C і додають  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (303г, 4,0ммоль). Через 20хв. охолоджують реакційну суміш до кімнатної температури, фільтрують через HyFlo з використанням 100мл етилацетату, екстрагують фільтрат 5% водним розчином хлориду літію ( $2 \times 100\text{мл}$ ), 1,0М водним розчином гідроксиду натрію ( $2 \times 50\text{мл}$ ) і розсоллом ( $2 \times 100\text{мл}$ ). Відділяють органічну фазу, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і випаровують у вакуумі, одержуючи 8,85г (96%) метил-3-фторбіфеніл-4-карбоксилату у вигляді білої твердої речовини.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ , 300МГц) 8,01 (t,  $J=7,8\text{Гц}$ , 1H), 7,58-7,62 (m, 2H), 7,41-7,51 (m, 4H), 7,37 (m, 1H), 3,96 (s, 3H); ІЧ ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3033, 2954, 1721, 1622, 1437, 1409, 1298, 1289, 1266, 1097; елементний аналіз обчислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{FO}_2$ : C 73,03, H 4,82; знайдено: C 73,06, H 4,86.

Змішують метил-3-фторбіфеніл-4-карбоксилат (8,18г, 35,5ммоль), ТГФ (225мл) та 1,0М водний розчин гідроксиду натрію (225мл). Нагрівають при 50°C протягом 8год. Охолоджують до кімнатної температури, додають 1,0М водний розчин хлористоводневої кислоти (300мл) і екстрагують етилацетатом ( $2 \times 200\text{мл}$ ). Відділяють органічну фазу, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і випаровують у вакуумі, одержуючи 7,12г (93%) 3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{d}_6\text{-DMSO}$ , 300МГц) 13,22 (br s, 1H), 7,93 (t,  $J=8,1\text{Гц}$ , 1H), 7,74-7,78 (m, 2H), 7,60-7,66 (m, 2H), 7,40-7,52 (m, 3H); ІЧ ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3035, 2666, 2575, 1699, 1621, 1563, 1408, 1298, 1265, 1193, 904; елементний аналіз обчислено для  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FC}_2$ : C 72,22, H 4,20; знайдено: C 72,18, H 4,35.

Змішують 3-фторбіфеніл-4-карбонову кислоту (10,46г, 0,048моль), 432мл хлористого метилену, 7 крапель диметилформаміду та 5,44мл (0,062моль, 1,3екв.) оксалілхлориду. Через 2год. випаровують розчинник і одержують 3-фторбіфеніл-4-карбонілхлорид у вигляді твердої речовини.

Змішують 1-метилтіо-1-метил-N-(4-фторбензил)-N-метилімоній-трифлат (20,96г, 0,58моль), 53мл піридину та 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-аміноіндан (15,33г, 0,58моль, 1екв.). Через 4,2год. випаровують в роторному випарнику, видаляючи більшу частину піридину, додають етилацетат, і видаляють розчинник в роторному випарнику, одержуючи залишок. Цей залишок витримують протягом ночі при 0°C, додають етилацетат (400мл) і екстрагують 200мл 1-н. водного розчину гідроксиду натрію, а потім 200мл води. Органічний шар сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і випаровують, одержуючи залишок. Після хроматографування цього залишку на силкагелі з градієнтним елюванням (від 3 до 10% метанолу в хлористому метилені) одержують 18,85г (76%) 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-(1-метил-N-(4-фторбензил)-N'-метиламідино)індану. Мас-спектр  $m/z=428$  ( $M+1$ ), т.пл.=123-132°C.

Змішують 1(R)-(трет-бутоксикарбоніламіно)-2(R)-гідрокси-6-(1-метил-N-(4-фторбензил)-N'-метиламідино)індан (18,86г, 0,044моль) та 110мл трифтороцтової

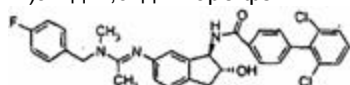


кислоти в льодяній бані. Після завершення додавання охолоджувальну баню відсувають, і перемішують суміш при кімнатній температурі протягом 2,5 год. Концентрують суміш у роторному випарнику, і одержують залишок. Цей залишок розчиняють в 100 мл хлористого метилену і охолоджують в льодяній бані до приблизно 13°C, додають 1-н. водний розчин гідроксиду натрію (272 мл), а потім 3-фторбензил-4-карбонілхлорид (11,26 г, 0,048 моль, 1,1 екв.), розчинений в 120 мл хлористого метилену. Додають додатково 30 мл 1-н. водного розчину гідроксиду натрію, і перемішують суміш приблизно при 10°C протягом 40 хв. Розподіляють реакційну суміш між водою та хлористим метиленом. Розділяють шари, і екстрагують органічний шар водою, сушать і концентрують у роторному випарнику, одержуючи 20,67 г залишку. Після хроматографування цього залишку на силікагелі з градієнтним елюванням (від 3% до 10% метанолу в хлористому метилені) та повторного хроматографування на силікагелі (із застосуванням приладу Prep 2000) з градієнтним елюванням (від 3% до 10% метанолу в хлористому метилені) одержують 11,34 г (49%) вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр:  $m/z=526$  ( $M+1$ ).

Для фахівця зрозуміло, що альтернативною назвою вказаної в заголовку сполуки є 6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2-гідрокси-1-(2-фторбензиламідо)індан.

#### Приклад 4-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2',6'-дихлорбеніл-4-карбонової кислоти



До суміші Нциклогексилкарбодіїмід-Nметилполістирольної смоли (Novobiochem, 2,0 ммоль/г) (150 мг, 0,30 ммоль) та 2',6'-дихлорбеніл-4-карбонової кислоти (14 мг, 0,05 ммоль) додають ДМФ (1,6 мл), а потім розчин N'-гідроксисукциніміду (2,3 мг, 0,02 ммоль) в ДМФ (0,2 мл), після чого додають розчин N-3-аміно-2-гідроксіндан-5-іл)-N(4-фторбензил)-Nметил-ацетамідину (6,6 мг, 0,02 ммоль) в ДМФ (0,2 мл). Перемішують суміш протягом 16 год., після чого додають полістирол-трисамінову смолу (Argonaut Technologies, 3,7 ммоль/г) (100 мг, 0,37 ммоль) і перемішують ще протягом 24 год. Після фільтрування суміші одержують 0,01 М розчин вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр ( $m/e$ ) 577 ( $M^+$ ).

Сполуки за Прикладами 4-2 - 4-36 одержують практично за методикою, описаною в Прикладі 4-1.

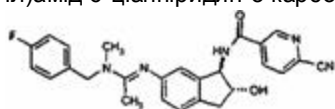
Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр ( $m/e$ )
4-2	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2',6'-дихлорбеніл-4-карбонової кислоти	542 ( $M^+$ )
4-3	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2-метилбеніл-4-карбонової кислоти	522 ( $M^+$ )
4-4	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2'-хлорбеніл-4-карбонової кислоти	542 ( $M^+$ )
4-5	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4'-трифторметил-беніл-4-карбонової кислоти	576 ( $M^+$ )
4-6	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3-хлор-2',4'-дифторбеніл-4-карбонової кислоти	578 ( $M^+$ )
4-7	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2'-трифторметил-беніл-4-карбонової кислоти	576 ( $M^+$ )
4-8	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4'-метилбеніл-4-карбонової кислоти	522 ( $M^+$ )
4-9	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-(2,6-дифторфеніл)-піридин-3-карбонової кислоти	545 ( $M^+$ )
4-10	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-(2-метилфеніл)піридин-3-карбонової кислоти	523 ( $M^+$ )
4-11	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3',4'-дифторбеніл-4-	544 ( $M^+$ )

	карбонові кислоти	
4-12	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3',5'-диметилбіфеніл-4-карбонові кислоти	536 (M <sup>+</sup> )
4-13	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4-циклогексилфеніл-1-карбонові кислоти	514 (M <sup>+</sup> )
4-14	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3'-ціанбіфеніл-4-карбонові кислоти	533 (M <sup>+</sup> )
4-15	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3',5'-дифторбіфеніл-4-карбонові кислоти	544 (M <sup>+</sup> )
4-16	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3'-фторбіфеніл-4-карбонові кислоти	526 (M <sup>+</sup> )
4-17	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 2',4'-дифторбіфеніл-4-карбонові кислоти	544 (M <sup>+</sup> )
4-18	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 2',3'-дихлорбіфеніл-4-карбонові кислоти	576 (M <sup>+</sup> )
4-19	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4'-хлорбіфеніл-4-карбонові кислоти	542 (M <sup>+</sup> )
4-20	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3'-хлорбіфеніл-4-карбонові кислоти	542 (M <sup>+</sup> )
4-21	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4-трифторметилфеніл-1-карбонові кислоти	500 (M <sup>+</sup> )
4-22	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4-метилфеніл-1-карбонові кислоти	446 (M <sup>+</sup> )
4-23	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3',5'-дихлорбіфеніл-4-карбонові кислоти	576 (M <sup>+</sup> )
4-24	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 2',4',6'-триметилбіфеніл-4-карбонові кислоти	550 (M <sup>+</sup> )
4-25	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 6-(4-фтор-2-метилфеніл)піридин-3-карбонові кислоти	541 (M <sup>+</sup> )
4-26	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 5-(2,4-дифторфеніл)піридин-2-карбонові кислоти	545 (M <sup>+</sup> )
4-27	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 2'-фтор-4'-трифторметилбіфеніл-4-карбонові кислоти	594 (M <sup>+</sup> )
4-28	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4-(пірол-1-іл)феніл-1-карбонові кислоти	597 (M <sup>+</sup> )
4-29	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 6-метилпіридин-3-карбонові кислоти	447 (M <sup>+</sup> )
4-30	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 4-ціанфеніл-1-карбонові кислоти	457 (M <sup>+</sup> )
4-31	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3,2',6'-трифторбіфеніл-4-карбонові кислоти	562 (M <sup>+</sup> )
4-32	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 3,2',6'-трифторбіфеніл-4-карбонові кислоти	541 (M <sup>+</sup> )
4-33	(R)-6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етилденаміно)-2(R)-гідроксипіридин-1-іл)а мід 2'-метилбіфеніл-4-	522 (M <sup>+</sup> )

	карбонової кислоти	
4-34	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2'-метоксибіфеніл-4-карбонової кислоти	538 (MH <sup>+</sup> )
4-35	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3,2'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	544 (MH <sup>+</sup> )
4-36	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6'-фтор-2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонової кислоти	594 (MH <sup>+</sup> )

#### Приклад 5-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-ціанпіридин-3-карбонової кислоти



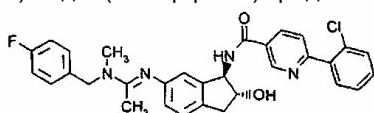
Розчиняють еквімолярні кількості N'-(3-аміно-2-гідроксіндан-5-іл)-N-(4-фторбензил)-N-метил-ацетамідину (229мг, 0,70ммоль) та 6-ціан-3-карбоксипіридину (0,70ммоль, 103мг) в безводному ДМФ (4,0мл). Додають триетиламін (0,487мл, 3,50ммоль), а потім гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокситрис-диметиламінофосфонію (296мг, 0,70ммоль). Перемішують реакційну суміш протягом 0,5год. при кімнатній температурі. Розбавляють реакційну суміш водою (100мл) і екстрагують етилацетатом (3×50мл). Об'єднані органічні фази сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують. Неочищений продукт реакції розчиняють в ТГФ (5,0мл). Додають гідроксидну смола (смола BIO-RAD AG 1-X8, 20-50меш (0,3-0,8мм), промита водою, 1M NaOH, MeOH, діетиловим ефіром і висушена у вакуумі) до досягнення основної реакції розчину і перемішують при температурі оточуючого середовища протягом 24год. Фільтрують суміш, промивають додатковою кількістю ТГФ, випаровують із нанесенням на силкагель і очищають флеш-хроматографією на колонці з елюванням сумішшю етилацетату з гексаном, одержуючи 253мг (79%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. Мас-спектр (m/e) 458 (M<sup>+</sup>).

Сполуки за Прикладами 5-2 - 5-8 одержують практично за методикою, описану в Прикладі 5-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (m/e)
5-2	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3,5-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	544,2 (M <sup>+</sup> )
5-3	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-(тієн-3-іл)феніл-1-карбонової кислоти	514,1 (M <sup>+</sup> )
5-4	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-трифторметилпіридин-3-карбонової кислоти	501,1 (M <sup>+</sup> )
5-5	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3-фтор-2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонової кислоти	594,1 (M <sup>+</sup> )
5-6	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2-фтор-4-трифторметил-феніл-1-карбонової кислоти	518,4 (M <sup>+</sup> )
5-7	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2'-хлор-3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти	560,2 (M <sup>+</sup> )
5-8	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 5-фенілпіразин-2-карбонової кислоти	510,3 (M <sup>+</sup> )

#### Приклад 6-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-(2-хлорфеніл)піридин-3-карбонової кислоти



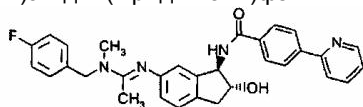
Розчиняють N'-(3(R)-аміно-2(R)-гідроксіндан-5-іл)-N-(4-фторбензил)-N-метил-ацетамідин (42мг, 0,13ммоль) та 6-(2-хлорфеніл)піридин-3-карбонову кислоту (103мг, 0,70ммоль) в безводному ДМФ (2,5мл). Додають триетиламін (0,178мл), а потім гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокситрис-диметиламінофосфонію (54мг, 0,13ммоль). Перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі до завершення реакції. Розбавляють реакційну суміш водою (100мл) і екстрагують етилацетатом. Об'єднані органічні фази сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують. Очищують залишок флеш-хроматографією на колонці з елюванням сумішами CHCl<sub>3</sub>/MeOH, і одержують 276мг (35,7%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді твердої речовини. Мас-спектр (m/e) 543,0 (M<sup>+</sup>).

Сполуки за Прикладами 6-2 - 6-4 одержують в основному за методикою, описаною в Прикладі 6-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (m/e)
6-2	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-(2,4-дифторфеніл)-піридин-3-карбонової кислоти	545,1 (M <sup>+</sup> )
6-3	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-йодфеніл-1-карбонової кислоти	558,0 (M <sup>+</sup> )
6-4	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 6-(тіен-3-іл)піридин-3-карбонової кислоти	515,4 (M <sup>+</sup> )

#### Приклад 7-1

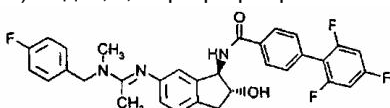
(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-(піридин-3-іл)феніл-1-карбонової кислоти



Змішують (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-йодфеніл-1-карбонової кислоти (0,131г, 0,235ммоль), 2-(трибутилстаніл)піридин (0,129г, 0,352ммоль) та тетракіс-(трифенілфосфін)-паладій(0) (0,406г, 0,352ммоль) в діоксані при 80°C. Нагрівають при перемішуванні до завершення реакції. Видаляють розчинник випаровуванням. Розбавляють залишок етилацетатом і перемішують з рівним об'ємом насиченого розчину фториду калію протягом 3год. Фільтрують розчин через шар целіту. Відділяють органічний шар від водного шару і сушать над сульфатом магнію. Видаляють органічний розчинник випаровуванням і очищують залишок флеш-хроматографією з елюванням дихлорметаном та метанолом, одержуючи 0,035г (30%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді твердої речовини. Мас-спектр (m/e) 509,2 (M<sup>+</sup>).

#### Приклад 8-1

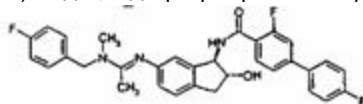
(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2',4',6'-трифторбіфеніл-4-карбонової кислоти



Змішують 2',4',6'-трифторбіфеніл-4-карбонову кислоту (66мг, 0,26ммоль), (3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодімід-гідрохлорид (EDC) (53мг, 0,28ммоль) та N-гідроксисукцинімід (33мг, 0,28ммоль) в дихлорметані і перемішують до завершення реакції. Промивають розчин 1-н. хлористоводневою кислотою. Органічний шар сушать над сульфатом магнію і концентрують. Залишок змішують з N'-(3(R)-аміно-2(R)-гідроксіндан-5-іл)-N-(4-фторбензил)-N-метил-ацетамідом (42мг, 0,13ммоль) в дихлорметані і перемішують до завершення реакції. Видаляють розчинник випаровуванням, і очищують залишок флеш-хроматографією з елюванням дихлорметаном та метанолом, одержуючи 37мг вказаної в заголовку сполуки. Мас-спектр (m/e) 562,0 (M<sup>+</sup>).

#### Приклад 9-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3,4'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти



Перемішують суміш 3,4'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти (160мг, 0,684ммоль), N-гідроксисукциніміду (79мг, 0,684ммоль) та дициклогексил-

карбодііміду (DCC) (141мг, 0,684ммоль) в 15мл хлористого метилену протягом 2год. при кімнатній температурі. Змішують трет-бутиловий складний ефір (6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)-карбамінової кислоти (256мг, 0,62ммоль) з TFA (2мл) при 0°C і перемішують протягом 2год. Випаровують TFA під зниженим тиском. Залишок розчиняють в хлористому метилені і випаровують досуха. Цю операцію повторюють тричі. Додають до залишку 5мл хлористого метилену та 1мл триетиламіну. Одержаний розчин додають до вищезгаданої суміші і перемішують при кімнатній температурі протягом 12год. Виливають суміш у хлористий метилен, промивають водою, сушать  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрують. Залишок очищають хроматографією на колонці (силікагель, 3% MeOH в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), і одержують 199мг вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (вихід 55%).

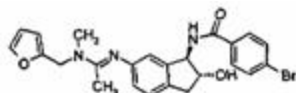
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,21 (1H, t, J=8,4Гц), 7,58 (2H, dd, J=8,8Гц та 4,8Гц), 7,32 (1H, d, J=13,2Гц), 7,26-7,23 (2H, m), 7,19-7,12 (3H, m), 7,04 (2H, t, J=8,8Гц), 6,68 (1H, s), 6,66 (1H, s), 5,32 (1H, t, J=5,2Гц), 4,82-4,72 (1H, m), 4,64 (2H, s), 4,56 (1H, q, J=6,4Гц), 3,32 (1H, dd, J=15,6Гц та 8,0Гц), 3,00 (3H, s), 2,96 (1H, dd, J=15,2Гц та 8,4Гц), 1,96 (3H, s). Мас-спектр 544 ( $\text{MH}^+$ ).

Сполуки за Прикладами 9-2 - 9-6 одержують практично за методикою, описаною в Прикладі 9-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (t/e)
9-2	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4'-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти	526 ( $\text{MH}^+$ )
9-3	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4'-фтор-2'-метоксибіфеніл-4-карбонової кислоти	556 ( $\text{MH}^+$ )
9-4	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2',6'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	544 ( $\text{MH}^+$ )
9-5	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 2'-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти	526,1 ( $\text{MH}^+$ )
9-6	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3,2',4'-трифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	562 (M+1)

#### Приклад 10-1

(R)-(6-(1-((фуран-2-ілметил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти

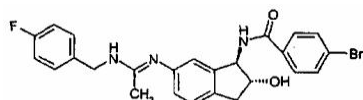


До суміші тіаоацетаміду (10,04г, 133,64ммоль) та  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (45,80г, 331,38ммоль) в 100мл ТГФ при 0°C додають крапля за краплею фталілхлорид (28,49г, 140,32ммоль). Через 2год. підвищують температуру реакційної суміші до 25°C і перемішують її ще протягом 2год., після чого знову охолоджують до 0°C. Гасять реакцію шляхом додавання крапля за краплею 125мл льодяної води. Екстрагують реакційну суміш двічі EtOAc. Органічний шар сушать  $\text{MgSO}_4$ , і видаляють розчинник у вакуумі, одержуючи 3,7г N-тіаоацетил-ізоіндол-1,3-діону у вигляді неочищеної твердої речовини червонуватого кольору.

Розчиняють N-метилфурфуриламін (117,2мг, 1,05ммоль) в 20мл  $\text{Et}_2\text{O}$  при 25°C. Додають до розчину 1'-тіаоацетил-ізоіндол-1,3-діон (294,4мг, 1,43ммоль) і перемішують протягом 24год. Додають до реакційної суміші MeOTf (181,7мг, 1,11ммоль) і перемішують ще протягом 23год. Відділяють  $\text{Et}_2\text{O}$  від масла декантацією і розтирають масло з  $\text{Et}_2\text{O}$ ; ці операції повторюють тричі. Видаляють надлишок  $\text{Et}_2\text{O}$  з маслянистого залишку у вакуумі і одержують 320,4мг неочищеного тіоімідату у вигляді масла. Цей неочищений продукт (161,1мг, 0,483ммоль) розчиняють у 10мл піридину і додають N-(6-аміно-2-гідроксіндан-1-іл)-4-бромбензамід (107,5мг, 0,310ммоль).

Перемішують реакційну масу при 25°C протягом 22год. Видаляють розчинник у вакуумі і розподіляють залишок між  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  і насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$ . Органічний шар сушать  $\text{MgSO}_4$ . Фільтрують і видаляють розчинник у вакуумі, одержуючи 146,2мг неочищеного продукту. Після очищення хроматографією в системі Biotage (елюент 1% MeOH в EtOAc) одержують 63,6мг вказаної в заголовку сполуки у вигляді не зовсім білої твердої речовини (43%). Мас-спектр (m/e) 483 (M+1).

Приклад 11-1  
(R)-(6-(1-((4-фторбензил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти



Стадія а). Змішують трет-бутиловий складний ефір (6-аміно-2-гідроксіндан-1-іл)-карбамінової кислоти (3,7г, 14,0ммоль) з 10мл TFA при 0°C. Перемішують суміш протягом 1год. і випаровують досуха. До залишку додають 6,5мл триетиламіну та 30мл хлористого метилену. Цю суміш повільно додають до розчину бензотриазол-1-ілового складного ефіру 4-бромбензойної кислоти в 15мл хлористого метилену при 0°C. Одержану суміш перемішують протягом 12год. при кімнатній температурі і фільтрують, одержуючи 3,4г (вихід 70%) N-(6-аміно-4-гідроксіндан-1-іл)-4-бромбензаміду у вигляді білої твердої речовини. Мас-спектр 348 (МН<sup>+</sup>).

Стадія b). До суміші триетиламіну (16,0г, 158ммоль) та 4-фторбензиламіну (9,90г, 78,8ммоль) в 200мл етилацетату при 0°C додають ацетилхлорид (9,28г, 118ммоль) і перемішують протягом 12год. Додають до суміші 100мл води. Водний шар екстрагують етилацетатом (3×100мл). Об'єднують органічні шари і промивають розсолем, потім сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Видаляють розчинник під зниженим тиском, і одержують N-(4-фторбензил)ацетамід (13,5г) з виходом 100% у вигляді жовтого масла. До N-(4-фторбензил)ацетаміду (13,5г, 80,8ммоль) в 200мл тетрагідрофурану додають NaN (6,5г, 162ммоль) при 0°C і перемішують протягом 4год. Потім додають до вищеописаної суміші метил йодид (22,9г, 161,6ммоль), і перемішують суміш протягом 12год. Виливають суміш у 200мл води. Водний шар екстрагують хлористим метиленом (3×200мл). Органічні шари об'єднують і промивають розсолем, потім сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Видаляють розчинник під зниженим тиском. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюенти 5% ацетону в гексані, потім 50% ацетону в гексані), і одержують N-(4-фторбензил)-N-метилацетамід (9,1г) з виходом 64% у вигляді жовтого масла. Додають реактив Лавессона (20,3г, 50,3ммоль) до N-(4-фторбензил)-N-метилацетаміду (9,1г, 50,3ммоль) в 200мл толуолу і нагрівають при 100°C протягом 3год. Видаляють розчинник під зниженим тиском. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюенти 2% хлористого метилену в гексані, потім 100% хлористий метилен), і одержують N-(4-фторбензил)-N-метилтіоацетамід (5,6г, 56,5%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Мас-спектр 198 (МН<sup>+</sup>).

Стадія с). Додають реактив Лавессона (1,8г, 3,6ммоль) до N-(4-фторбензил)ацетаміду (0,9г, 5,4ммоль) в 50мл толуолу і нагрівають при 80°C протягом 12год. Видаляють розчинник під зниженим тиском. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент ацетон:гексан, 20:80), і одержують суміш продуктів. Промивають діетиловим ефіром і видаляють нерозчинні тверді домішки фільтруванням. Видаляють розчинник під зниженим тиском, і одержують N-(4-фторбензил)тіоацетамід (0,7г, 71%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Мас-спектр 184 (МН<sup>+</sup>).

Стадія d). До розчину N-(3-фторбензил)тіоацетаміду (0,106г, 0,580ммоль) в 10мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> при кімнатній температурі додають метил-трифторметансульфонат (0,190г, 1,16ммоль). Перемішують суміш протягом 30хв., і видаляють розчинник під зниженим тиском. Розчиняють залишок у 5мл піридину. Потім додають до розчину трифтороцтової кислоти сіль N-(6-аміно-2-гідроксіндан-1-іл)-4-бромбензаміду. Перемішують суміш протягом 3год. Видаляють піридин під зниженим тиском. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюенти гексан/ацетон 7:3, потім 1:1), і одержують 40мг вказаної в заголовку сполуки (вихід 14%) у вигляді білої твердої речовини. Мас-спектр 496 (МН<sup>+</sup>).

Сполуки за Прикладами 11-2 - 11-17 одержують практично за методикою, описаною в Прикладі 11-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (m/e)
11-2	(R)-(6-(1-((3-фторбензил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	496 (МН <sup>+</sup> )
11-3	(R)-(6-(1-((1,3-бензодіоксол-5-ілметил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	522 (МН <sup>+</sup> )
11-4	(R)-(6-(1-((4-метоксибензил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	508 (МН <sup>+</sup> )
11-5	(R)-(6-(1-((3-метоксибензил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	508 (МН <sup>+</sup> )

	гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	
11-6	(R)-(6-(1-((2-метоксибензил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	508 (МН <sup>+</sup> )
11-7	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	510 (МН <sup>+</sup> )
11-8	(R)-(6-(1-((2-(4-фторфеніл)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	510 (МН <sup>+</sup> )
11-9	(R)-(6-(1-((2-(2-фторфеніл)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	510 (МН <sup>+</sup> )
11-10	(R)-(6-(1-((2-(4-метоксибензил)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	522 (МН <sup>+</sup> )
11-11	(R)-(6-(1-((2-(3-фторфеніл)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	510 (МН <sup>+</sup> )
11-12	(R)-(6-(1-((2-(2-метоксибензил)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	522 (МН <sup>+</sup> )
11-13	(R)-(6-(1-((2-(3-метоксибензил)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	522 (МН <sup>+</sup> )
11-14	(R)-(6-(1-((2-(2,3-диметоксибензил)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	552 (МН <sup>+</sup> )
11-15	(R)-(6-(1-((2-(1,3-бензодіоксол-5-іл)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	536 (МН <sup>+</sup> )
11-16	(R)-(6-(1-((2-(4-фторфеніл)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	524 (МН <sup>+</sup> )
11-17	(R)-(6-(1-((2-(2-метоксибензил)етил)аміно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід 4-бромфеніл-1-карбонової кислоти	536 (МН <sup>+</sup> )

#### Приклад 12-1

(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти

Змішують трет-бутиловий складний ефір (6-аміно-2-гідроксидан-1-іл)-карбаїнової кислоти (1,5г, 5,68ммоль) з 5мл TFA при 0°C. Перемішують суміш протягом 1год. і випаровують досуха. До залишку додають 3,0мл триетиламіну та 30мл хлористого метилену. До цієї суміші додають розчин 2,5-діоксопіролідін-1-ілового складного ефіру біфеніл-4-карбонової кислоти (1,76г, 5,96ммоль) в 15мл хлористого метилену. Одержану суміш перемішують протягом 12год. Випаровують розчинник, і очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 9:1), одержуючи 1,88г (вихід 96%) (6-аміно-2-гідроксидан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти. Мас-спектр 345 (МН<sup>+</sup>).

До розчину N-(4-фторбензил)тіоацетаміду (0,2г, 1,0ммоль) в 5мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> при кімнатній температурі додають метил-трифторметансульфонат (0,290г, 1,76ммоль). Перемішують суміш протягом 30хв., і видаляють розчинник під зниженим тиском. Розчиняють залишок у 5мл піридину. Потім додають до розчину (6-аміно-2-гідроксидан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти. Перемішують суміш протягом 12год. Видаляють піридин під зниженим тиском. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюенти гексан/ацетон 7:3, потім 1:1), і одержують 78мг вказаної в заголовку сполуки (вихід 35%) у вигляді білої твердої речовини. <sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,78 (1H, d, J=8,8Гц), 8,04 (2H, d, J=8,8Гц), 7,79 (2H, d, J=8,4Гц), 7,74 (2H, dd, J=7,4, 1,6Гц), 7,50 (2H, t, J=8,0Гц), 7,41 (1H, t, J=7,2Гц), 7,28 (2H, dd, J=8,8, 6,6Гц), 7,14 (2H, t, J=8,8Гц), 7,04 (1H, t, J=7,6Гц), 6,78 (1H, d, J=7,2Гц), 6,37 (1H, s), 5,33 (1H, d, J=5,6Гц), 5,27 (1H, t, J=7,6Гц), 4,59 (2H, s), 4,45 (1H, q, J=6,0Гц), 3,10 (1H, dd, J=14,8Гц, 7,2Гц), 2,90 (3H, s), 2,68 (1H, dd, J=14,8Гц, 7,2Гц), 1,88 (3H, s); мас-спектр 508 (МН<sup>+</sup>).

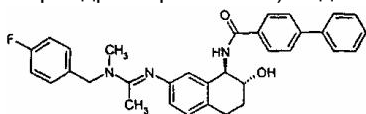
Сполуки за Прикладами 12-2 - 12-7 одержують в основному за методикою, описану в Прикладі 12-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (m/e)
12-2	(R)-(6-(1-((3-метоксибензил)метиламіно)етил)денаміно)-2(R)-гідроксидан-1-іл)амід	520 (МН <sup>+</sup> )

	біфеніл-4-карбонової кислоти	
12-3	(R)-(6-(1-((3,4-дифторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	526 (МН <sup>+</sup> )
12-4	(R)-(6-(1-((2-(4-фторфеніл)етил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	508 (МН <sup>+</sup> )
12-5	(R)-(6-(1-((2-(2-метоксифеніл)етил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	520 (МН <sup>+</sup> )
12-6	(R)-(6-(1-((2-(2-фторфеніл)етил)аміно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	508 (МН <sup>+</sup> )
12-7	(R)-(6-(1-((2-(4-фторфеніл)етил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	522 (МН <sup>+</sup> )

#### Приклад 13-1

(R)-(7-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідрокси-1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти

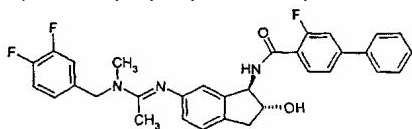


Перемішують суміш 1-аміно-7-нітро-1,2,3,4-тетрагідронафталін-2-олу (500мг, 2,40ммоль) та 1-н. NaOH (4,8мл, 4,8ммоль) у суміші 50мл толуолу та 50мл води протягом 30хв. Повільно додають біфеніл-4-карбонілхлорид (570мг, 2,64ммоль) і перемішують протягом 4год. при кімнатній температурі. Видаляють тверду фазу фільтруванням і промивають толуолом. Випаровують розчинник під зниженим тиском. Одержують (2-гідрокси-7-нітро-1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти з виходом 54% у вигляді білої твердої речовини. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,87 (1H, d, J=8,4Гц), 8,03 (2H, d, J=8,4Гц), 7,99 (2H, d, J=7,6Гц), 7,79 (2H, d, J=8,4Гц), 7,74 (2H, t, J=8,4Гц), 7,50 (2H, t, J=7,2Гц), 7,43 (2H, t, J=6,8Гц), 5,22 (1H, d, J=4,4Гц), 5,11 (1H, t, J=7,6Гц), 3,95-4,01 (1H, m), 2,87-3,07 (2H, m), 2,08-2,15 (1H, m), 1,81-1,94 (1H, m); мас-спектр 389 (МН<sup>+</sup>). Вищезгадану сполуку (0,25г, 0,64ммоль) відновлюють в 10мл ДМФ у присутності 48мг 10% Pd/C при кімнатній температурі під тиском 60 фунтів на кв. дюйм (414кПа) протягом ночі, і одержують (7-аміно-2-гідрокси-1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти з виходом 96% у вигляді масла жовтого кольору. Мас-спектр 359 (МН<sup>+</sup>).

До розчину N-4-фторбензил-N-метилтіоацетаміду (0,145г, 0,736ммоль) в 10мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> при кімнатній температурі додають метил-трифторметансульфонат (0,150г, 0,915ммоль). Перемішують суміш протягом 30хв., і видаляють розчинник під зниженим тиском. Потім додають (7-аміно-2-гідрокси-1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти (0,22г, 0,61ммоль), а потім 5мл піридину. Перемішують суміш протягом 12год. Після випаровування піридину очищують залишок хроматографією на колонці (сілікагель, елюент 5% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), одержуючи 10мг вказаної в заголовку сполуки (вихід 2,6%) у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору. <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,89 (2H, d, J=8,0Гц), 8,66 (2H, d, J=8,4Гц), 7,61 (2H, d, J=7,2Гц), 7,47 (2H, t, J=7,6Гц), 7,39 (1H, t, J=7,6Гц), 7,21 (1H, dd, J=6,0, 8,8Гц), 6,98-7,05 (3H, m), 6,72 (1H, s), 6,62 (1H, dd, J=2,0Гц, 8,4Гц), 6,56 (1H, d, J=7,2Гц), 5,22 (1H, t, J=7,6Гц), 4,60 (2H, s), 3,98-4,04 (2H, m), 3,41 (1H, t, J=6,0Гц), 2,96 (3H, s), 2,85 (2H, t, J=4,8Гц), 2,15-2,21 (2H, m), 1,87-1,95 (1H, m), 1,92 (3H, s), 1,60-1,64 (1H, m); мас-спектр 522 (МН<sup>+</sup>).

#### Приклад 14-1

(R)-(6-(1-((3,4-дифторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)амід 3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти



Одержують N-(3,4-дифторбензил)-N-метилтіоацетамід за методикою, описаною для стадії b) Прикладу 11-1, використовуючи 3,4-дифторбензиламін; цільову сполуку одержують з виходом 66% у вигляді твердої речовини жовтого кольору. Мас-спектр 216 (МН<sup>+</sup>).

До розчину N-(3,4-дифторбензил)-N-метилтіоацетаміду (0,145г, 0,736ммоль) в 10мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> при кімнатній температурі додають метил-трифторметансульфонат (0,750г, 3,49ммоль). Перемішують суміш протягом 30хв., і видаляють розчинник під зниженим тиском. Потім додають трет-бутиловий складний ефір (6-аміно-2-гідроксіндан-1-іл)карбаминової кислоти (0,78г, 2,97ммоль), а потім 5мл піридину. Перемішують суміш протягом 12год. Після випаровування піридину очищують

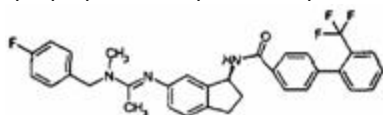


залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент 3% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), одержуючи 0,98г трет-бутилового складного ефіру (6-(1-((3,4-дифторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2-гідроксіндан-1-іл)карбамінової кислоти у вигляді білої твердої речовини. Мас-спектр 446 (M<sup>+</sup>).

Додають до трет-бутилового складного ефіру (R)(6-(1-((3,4-дифторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)карбамінової кислоти (180мг, 4,04ммоль) 5мл трифтороцтової кислоти і перемішують протягом 30хв. Видаляють розчинник під зниженим тиском. Залишок розчиняють в 15мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Потім додають до розчину 2,5-діоксопіролідін-1-іловий складний ефір 3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти (150мг, 4,79ммоль) та триетиламін (0,6мл, 4,0ммоль) і перемішують протягом 12год. Виливають суміш у хлористий метилен, промивають водою, сушать Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, після чого концентрують. Очищають залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент 3% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), одержуючи 35мг вказаної в заголовку сполуки (вихід 16%) у вигляді білої твердої речовини <sup>1</sup>H ЯМР (CD<sub>3</sub>OD) δ 7,88 (2H, t, J=8,0Гц), 7,7 (2H, d, J=8,4Гц), 7,60 (2H, dd, J=8,0, 1,2Гц), 7,47-7,55 (3H, m), 7,43-7,47 (1H, m), 7,21-7,32 (2H, m), 7,18 (1H, d, J=8,0Гц), 7,11-7,14 (1H, m), 6,71 (2H, dd, J=10,0Гц, 1,2Гц), 5,47 (1H, d, J=6,8Гц), 4,69 (2H, s), 4,54 (1H, q, J=7,2Гц), 4,54 (1H, q, J=6,4Гц), 3,29 (1H, q, J=7,2Гц), 3,07 (3H, s), 2,88 (1H, q, J=7,8Гц), 1,99 (3H, s); мас-спектр 544 (M<sup>+</sup>).

Приклад 15-1

(R)(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)індан-1-іл)амід 2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонової кислоти



Змішують 1-аміноіндан (1,0г, 8,1ммоль) з 6,6мл димлячої HNO<sub>3</sub> при -10°C. Перемішують одержану суміш протягом 30хв., виливають на лід і потім перемішують протягом 30хв. Відділяють тверду речовину, промивають її водою і сушать, одержуючи 0,614г (42%) продукту. Цей продукт змішують з ди-трет-бутилдикарбонатом (0,929г, 4,26ммоль) в ТГФ. Змішують одержану суміш із насиченим водним розчином K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> для встановлення pH11. Перемішують протягом 8год., виливають в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, промивають водою, сушать і концентрують. Залишок розчиняють в суміші діетилового ефіру з гексаном (1:1) і витримують протягом ночі при -10°C. Відділяють і сушать твердий продукт, одержуючи 0,57г (59%) трет-бутилового складного ефіру (6-нітроіндан-1-іл)карбамінової кислоти. <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,16 (1H, br s), 8,11 (1H, dd, J=8,4Гц та 2,0Гц), 7,34 (1H, d, J=8,4Гц), 5,25 (1H, q, J=8,8Гц), 4,78 (1H, br d, J=6,4Гц), 3,08-2,00 (1H, m), 2,96-2,78 (1H, m), 2,72-2,62 (1H, m), 1,93-1,83 (1H, m), 1,51 (9H, s).

До суміші трет-бутилового складного ефіру (6-нітроіндан-1-іл)карбамінової кислоти (1,17г, 4,2ммоль) та CuCl (1,25г, 12,6ммоль) в 50мл метанолу повільно додають при 0°C протягом 15хв. KBH<sub>4</sub> (1,59г, 29,4ммоль).

Перемішують суміш протягом 1год., після чого пропускають через шар флорисилу (Florisil). Випаровують ТГФ, і розчиняють твердий залишок в EtOAc. Промивають суміш водою, сушать і концентрують, одержуючи 0,76г (73%) трет-бутилового складного ефіру (6-аміноіндан-1-іл)карбамінової кислоти. <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 6,99 (1H, d, J=8,0Гц), 6,65 (1H, s), 6,56 (1H, dd, J=8,0Гц та 2,0Гц), 5,09 (1H, q, J=8,0Гц), 4,70 (1H, br d, J=7,2Гц), 3,60 (2H, s), 2,86-2,79 (1H, m), 2,75-2,67 (1H, m), 2,58-2,47 (1H, m), 1,78-1,69 (1H, m), 1,48 (3H, s), 2,86-2,79 (1H, m), 2,75-2,67 (1H, m), 2,58-2,47 (1H, m), 1,78-1,69 (1H, m), 1,48 (3H, s).

До розчину N-4-фторбензил-N-метилтіоацетаміду (0,662г, 3,4ммоль) в 10мл діетилового ефіру при кімнатній температурі додають MeI (0,623г, 4,4ммоль). Перемішують суміш протягом 3год., і видаляють ефір у вакуумі. Додають трет-бутиловий складний ефір (6-аміноіндан-1-іл)карбамінової кислоти (0,7г, 2,28ммоль), а потім 5мл піридину. Перемішують суміш протягом 12год. Випаровують піридин, і очищають залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент 3% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), одержуючи 1,26г трет-бутилового складного ефіру (6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)карбамінової кислоти у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору, мас-спектр 412 (M<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H ЯМР (CD<sub>3</sub>OD) δ 7,35-7,29 (2H, m), 7,18-7,10 (3H, m), 6,70 (1H, s), 6,65 (1H, d, J=7,6Гц), 5,06 (1H, t, J=6,8Гц), 4,69 (2H, s), 3,05 (3H, s), 2,97-2,91 (1H, m), 2,84-2,77 (1H, m), 2,55-2,48 (1H, m), 1,97 (3H, s), 1,52 (9H, s).

Перемішують суміш 2'-трифторметилбіфеніл-4-карбонової кислоти (100мг, 0,376ммоль), N-гідроксисукциніміду (43мг, 0,376ммоль) та DCC (77мг, 0,376ммоль) в 15мл хлористого метилену при кімнатній температурі протягом 2год. Змішують трет-бутиловий складний ефір (6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)індан-1-іл)карбамінової кислоти

(129мг, 0,313ммоль) з TFA (2мл) при 0°C і перемішують протягом 2год. Випаровують TFA під зниженим тиском. Розчиняють залишок в хлористому метилені і випаровують досуха; ці операції повторюють тричі. Додають 5мл

хлористого метилену та 1мл триетиламіну. Одержаний розчин додають до вищезгаданої суміші і перемішують протягом 12год. при кімнатній температурі. Виливають суміш у хлористий метилен, промивають водою, сушать  $\text{Na}_2\text{SCl}_2$  і концентрують. Очищують залишок хроматографією на колонці (силікагель, елюент 3%  $\text{MeOH}$  в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), і одержують 82мг вказаної в заголовку сполуки (вихід 47%) у вигляді білої твердої речовини.

MS 560 ( $\text{MH}^+$ );  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,83 (2H, d, J=8,0Гц), 7,75 (1H, d, J=7,6Гц), 7,56 (1H, t, J=7,2Гц), 7,49 (1H, t, J=8,0Гц), 7,40 (2H, d, J=8,0Гц), 7,31 (1H, d, J=8,0Гц), 7,26-7,21 (3H, m), 7,15 (1H, d, J=7,6Гц), 7,02 (2H, t, J=8,8Гц), 6,75 (1H, s), 6,64 (1H, d, J=7,2Гц), 5,67 (1H, q, J=7,6Гц), 4,61 (2H, q, J=10,0Гц), 2,97 (3H, s), 2,94-2,83 (1H, m), 2,75-2,68 (1H, m), 2,00-1,70 (4H, brs), 1,69-1,58 (1H, m).

Сполуки за Прикладами 15-2 - 15-7 одержують в основному за методикою, описаною в Прикладі 15-1.

Приклад №	Назва сполуки	Мас-спектр (т/е)
15-2	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід 3,5-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	528 ( $\text{MH}^+$ )
15-3	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід 2'-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти	510 ( $\text{MH}^+$ )
15-4	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід 2',6'-диформетилбіфеніл-4-карбонової кислоти	528 ( $\text{MH}^+$ )
15-5	(K)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід біфеніл-4-карбонової кислоти	492 ( $\text{MH}^+$ )
15-6	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід 3-фторбіфеніл-4-карбонової кислоти	510 ( $\text{MH}^+$ )
15-7	(R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-індан-1-іл)амід 3,2'-дифторбіфеніл-4-карбонової кислоти	528 ( $\text{MH}^+$ )

#### Приклад Р-1

Гемігідрат (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти

Додають 21,8л метанолу до 2,86кг сольвату (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти. Пропускають одержаний розчин через фільтр, імпрегнований вугіллям, і промивають фільтр 24л метанолу. Додають до розчину 5,7кг води протягом 35хв., а потім затравочні кристали гемігідрату (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти. Через 20хв. додають 1,15кг води, а потім 15г затравочних кристалів. Через 1год. додають ще 1,15кг води протягом 30хв., а потім 15г затравочних кристалів. Через 10хв. додають 3,4кг води протягом 1год., і перемішують суспензію при кімнатній температурі протягом 1год., а потім при 0°C протягом 45хв. Відділяють твердий продукт фільтруванням, промивають охолодженою сумішшю 11,4л метанолу та 2,9л води і сушать, одержуючи 2,19кг вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

#### Приклад Р-2

Гемігідрат (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти

Розчиняють сольват (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти (2,0г) в метанолі (24мл) при 20-23°C. Додають до розчину воду (5мл), а потім затравочні кристали гемігідрату (20мг). Перемішують суміш протягом 2год. при 20-23°C, після чого охолоджують до 0-5°C. Суміш фільтрують, промивають осад метанолом (8мл) і водою (2мл) і сушать у вакуумі при 50-60°C протягом 16год., одержуючи 1,66г вказаної в заголовку сполуки.

#### Приклад Р-3

Гемігідрат (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2(R)-гідроксіндан-1-іл)аміду біфеніл-4-карбонової кислоти

Змішують розчин ацетонітрильного сольвату (R)-(6-(1-((4-фторбензил)метиламіно)етиліденаміно)-2-гідрокси-1-біфеніламіноіндану (101г) та метанол (1,2л) з Darco G-60 (5г). Після перемішування протягом 15-30хв. при 15-25°C суміш фільтрують і промивають відфільтровану тверду речовину метанолом (0,4л). Додають до об'єднаних фільтратів воду (0,4л), обполіскують і додають затравочні кристали гемігідрату (1,5г). Перемішують суміш протягом 2-3год. при 15-25°C, після чого охолоджують до 0-5°C і перемішують додатково протягом 90хв. Суміш фільтрують, промивають осад охолодженим до 0-5°C метанолом (0,8л) і водою (0,2л) і сушать у вакуумі при 47-53°C протягом 20год., одержуючи 88,7г вказаної в

заголовку сполуки.

Сполуки згідно з цим винаходом можна вводити в організм окремо або у формі фармацевтичних композицій, тобто в комбінації з фармацевтично прийнятними носіями або наповнювачами, пропорція та природа яких визначаються розчинністю та хімічними властивостями вибраної сполуки, обраним шляхом введення та стандартною фармацевтичною практикою. Сполуки згідно з цим винаходом є ефективними самі по собі, проте їх можна вводити до складу композицій та застосовувати у формі їхніх фармацевтично прийнятних солей з міркувань стабільності, зручності, розчинності тощо. На практиці сполуки Формули I звичайно застосовують у формі фармацевтичних композицій, тобто в сумішах із фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами.

Таким чином, цей винахід пропонує фармацевтичні композиції, які містять сполуку Формули I та фармацевтично прийнятний розріджувач. Цей винахід пропонує також відповідну упаковку (в тому числі етикетку), яка включає фармацевтичні композиції, що містять сполуку Формули I.

Сполуки Формули I можна вводити в організм різноманітними шляхами. При лікуванні пацієнта, котрий страждає на розлади, описані в цьому документі, сполуку Формули I можна застосовувати в будь-якій формі або різновиді, котрий забезпечує біодоступність сполуки в ефективній кількості, в тому числі пероральними та парентеральними шляхами. Наприклад, сполуки Формули I можна вводити в організм пероральним, інгаляційним, підшкірним, внутрішньом'язовим, внутрішньовенним, черезшкірним, інтраназальним, ректальним, черезочним, місцевим, під'язичним, защічним шляхами тощо. Як правило, при лікуванні розладів, описаних в цьому документі, перевага віддається пероральному застосуванню.

Фахівець у галузі приготування лікарських препаратів може без утруднень вибрати відповідну форму та спосіб введення сполук згідно з цим винаходом в організм, залежно від конкретних характеристик вибраної сполуки, розладу або хворобливого стану, що підлягає лікуванню, стадії розвитку розладу або хворобливого стану та інших релевантних обставин. [Див. монографію Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> Edition, Mack Publ. Co. (1990)].

Фармацевтичні композиції виготовляють способами, добре відомими в фармацевтичній практиці. Носій або розріджувач може являти собою твердий, напівтвердий або рідкий матеріал, який може бути носієм або середовищем для активного інгредієнта. Відповідні носії або наповнювачі добре відомі в галузі. Фармацевтична композиція може бути пристосована для перорального, інгаляційного, парентерального або місцевого застосування і може бути введена в організм пацієнта у формі таблеток, капсул, аерозолів, інгаляційних лікарських форм, супозиторіїв, розчинів, суспензій тощо.

Сполуки згідно з цим винаходом можна вводити в організм перорально, наприклад, в комбінації з інертним розріджувачем або в капсулах, або у формі пресованих таблеток. Для цілей перорального терапевтичного застосування згадані сполуки можна комбінувати з наповнювачами і застосовувати у формі таблеток, пастилок, капсул, еліксирів, суспензій, сиропів, облаток, жувальних гумок тощо. Ці препарати можуть містити як активний інгредієнт щонайменше 4% сполуки згідно з цим винаходом, проте кількість згаданої сполуки може варіювати залежно від конкретної форми і становити від 4% (мас.) до приблизно 70% (мас.) дозованої одиниці. Кількість сполуки в композиції забезпечує відповідне дозування сполуки. Композиції та препарати згідно з винаходом, яким віддається перевага, може визначити фахівець.

Таблетки, пілюлі, капсули, пастилки тощо можуть містити також одну або кілька таких допоміжних речовин: в'яжучі, наприклад, мікрокристалічну целюлозу, трагакантову камедь або желатин; наповнювачі, наприклад, крохмаль або лактозу; дезінтегратори, наприклад, альгінову кислоту, примогель (Primogel), кукурудзяний крохмаль тощо; змащувальні агенти, наприклад, стеарат магнію або Стеротекс (Sterotex); ковзні агенти, наприклад, колоїдний діоксид кремнію; можуть бути додані також підсолоджувачі, наприклад, сахароза або сахарин, або смакоароматичні домішки, наприклад, м'ята, метилсаліцилат або апельсиновий ароматизатор. Якщо дозованою лікарською формою є капсула, то вона може містити, окрім матеріалів вищезгаданих типів, рідкий носій, наприклад, поліетилєнгліколь або жирну олію. Інші дозовані лікарські форми можуть містити різноманітні інші матеріали, які змінюють фізичну форму дозованої одиниці, наприклад, у вигляді оболонки. Так, таблетки або пілюлі можуть мати оболонку з цукру, шелаку або інших матеріалів. Сироп, окрім сполук згідно з винаходом, може містити сахарозу як підсолоджувач та певні консерванти, піменти і барвники та ароматизатори. Матеріали, що застосовуються при виготовленні цих різноманітних композицій, мають бути фармацевтично чистими та нетоксичними у використуваних кількостях.

Для перорального та парентерального терапевтичного застосування сполуки згідно з цим винаходом можуть бути введені до складу розчинів або суспензій. Ці

препарати, як правило, містять щонайменше 0,1% сполуки згідно з цим винаходом, проте кількість згаданої сполуки може варіювати і становити від 0,1% (мас.) до приблизно 90% (мас.) препарату. Кількість сполуки Формули I в таких композиціях забезпечує відповідне дозування сполуки. Розчини або суспензії можуть містити також одну або кілька таких допоміжних речовин: стерильні розріджувачі, наприклад, воду для ін'єкцій, сольовий розчин, нелеткі олії, поліетиленгліколи, гліцерин, пропіленгліколь або інші синтетичні розчинники; протимікробні агенти, наприклад, бензиловий спирт або метилпарабен; антиоксиданти, наприклад, аскорбінову кислоту або бісульфіт натрію; хелатуючі агенти, наприклад, етилендіамінтетраоцтову кислоту; буферні сполуки, наприклад, ацетати, цитрати або фосфати, та агенти для регулювання тоничності, наприклад, хлорид натрію або декстрозу. Препарати для парентерального застосування можуть бути вміщені в ампули, одноразові шприци або багатодозові флакони, виготовлені зі скла або пластмаси. Композиції та препарати, яким віддається перевага, може визначити фахівець.

Сполуки згідно з цим винаходом можна застосовувати також місцево, і в таких випадках носій може відповідно містити розчин, мазеву або гелеву основу. Така основа може містити, наприклад, одну або кілька таких речовин: вазелін, ланолін, поліетиленгліколи, бджолиний віск, мінеральне масло, розріджувачі, наприклад, воду та спирт, та емульгатори, а також стабілізатори. Лікарські форми для місцевого застосування можуть містити сполуку Формули I або її фармацевтично прийнятну сіль в концентрації (маса на одиницю об'єму) від приблизно 0,1% до 10%.

Сполуки Формули I є агоністами мускаринових рецепторів M-1. Крім того, сполуки Формули I є селективними агоністами зазначеного конкретного мускаринового рецептора. Сполуки згідно з цим винаходом мають особливо корисні властивості з точки зору їхньої біодоступності, фармакокінетики, безпечності та ефективності. Мускаринові агоністи, в тому числі їхній профіль зв'язування за підтипами, можна ідентифікувати способами, добре відомими в практиці.

Згідно з одним із варіантів здійснення, цей винахід пропонує способи лікування розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами, які включають введення в організм пацієнта, котрий потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I. Тобто в цьому винаході маються на увазі різноманітні розлади, згадані в цьому документі як такі, що підлягають лікуванню, та інші відомі фахівцям розлади, які можна лікувати згаданими агоністами.

Численні розлади, котрі можна лікувати мускариновими агоністами, є відомими і відповідають встановленим та прийнятим класифікаціям, в той час як інші недосить відомі. Наприклад, пізнавальна здатність є складним та іноді недосить чітко визначеним явищем. Широко відомо, однак, що пізнавальна здатність охоплює різноманітні "сфери". До таких сфер належать короточасна пам'ять, довгочасна пам'ять, робоча пам'ять, виконавчі функції та увага.

Мається на увазі, що сполуки згідно з цим винаходом є корисними при лікуванні розладів, котрі характеризуються порушеннями в будь-якій з вищезгаданих сфер або в інших аспектах пізнавальної здатності. Таким чином, термін "розлади пізнавальної здатності" охоплює будь-який розлад, що характеризується порушенням в одній або кількох сферах пізнавальної здатності, в тому числі (але не тільки) порушень короточасної пам'яті, довгочасної пам'яті, робочої пам'яті, виконавчих функцій та уваги.

Одним із розладів пізнавальної здатності, який підлягає лікуванню згідно з цим винаходом, є вікове зниження пізнавальної здатності. Цей розлад у практиці чітко не визначений, але включає послаблення функцій в різних сферах пізнавальної здатності, зокрема, пам'яті та уваги, яким супроводжується старіння. Іншим розладом пізнавальної здатності є помірна недостатність пізнавальної здатності. Цей розлад також чітко не визначений в практиці, але він включає послаблення функцій в різних сферах пізнавальної здатності і вважається типовим для групи пацієнтів, більшість з яких страждає на хворобу Альцгеймера в початкових стадіях. Ще одним розладом пізнавальної здатності є погіршення пізнавальної здатності, пов'язане із шизофренією. Залежність між порушеннями пізнавальної здатності та іншими симптомами шизофренії на цей час остаточно ще не з'ясована. У деяких хворих спостерігалися явища погіршення пізнавальної здатності задовго до розвитку виразних симптомів, в той час як в інших пізнавальна здатність погіршувалася після першого нападу з подальшими рецидивами. Ще одним розладом пізнавальної здатності є порушення пізнавальної здатності, спричинене хіміотерапією. У хворих, яких піддають хіміотерапії з приводу раку, можуть виникати погіршення пізнавальної функції, і це погіршення може бути тривалим. Крім того, порушеннями пізнавальної здатності, котрі можна лікувати згідно з цим винаходом, є такі, що можуть виникати внаслідок різноманітних інсультів (пошкоджень, нападів або травм), до яких належать апоплексія, ішемія, гіпоксія, запалення, інфекційні процеси, а також розлади пізнавальної здатності, котрі

виникають після аорто-коронарного шунтування та трансплантацій, апоплексії, церебральної ішемії, травм спинного мозку, травм голови, перинатальної гіпоксії, синдрому алкогольного отруєння плода, зупинки серця та гіпоглікемічного пошкодження нейронів, судинної деменції, багатоінфарктної деменції, бічного аміотрофічного склерозу, хіміотерапії та розсіяного склерозу.

Щодо відомих розладів, котрі відповідають встановленим та прийнятим класифікаціям як такі, що піддаються лікуванню мускариновими агоністами, то ці класифікації можна знайти в різноманітних джерелах. Наприклад, на цей час четверте видання Довідника з діагностики та статистики психічних розладів (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV™), 1994, American Psychiatric Association, Washington, D.C.) пропонує діагностичні методи для ідентифікації численних розладів, згаданих у цьому документі. Класифікацію багатьох розладів, згаданих у цьому документі, можна знайти також у Міжнародній класифікації захворювань, видання 10 (International Classification of Diseases, 10<sup>th</sup> Revision (ICD-10)). Фахівцям відомо, що існують також альтернативні номенклатури, системи нозології та класифікації описаних в цьому документі розладів, в тому числі розладів, описаних в DSM-IV та ICD-10, і що термінологія та системи класифікації розвиваються разом із прогресом в галузі наукової медицини.

У варіантах здійснення, яким віддається особлива перевага, цей винахід пропонує способи лікування розладів, вибраних з групи, до якої входять: розлади пізнавальної здатності (в тому числі віковий розлад пізнавальної здатності, помірна недостатність пізнавальної здатності, погіршення пізнавальної здатності, пов'язане із шизофренією, та погіршення пізнавальної здатності, спричинене хіміотерапією), ADHD, розлади настрою (в тому числі депресія, манія, біполярні розлади), психози (зокрема, шизофренія та розлади шизофренічного типу), деменція (в тому числі хвороба Альцгеймера, деменція, спричинена СНІД, судинна деменція та деменція за відсутності характерної гістології), хвороба Паркінсона та хорея Гентінгтона, болі (в тому числі гострі болі та хронічні болі), ксеростомія (сухість у роті), захворювання тіла Леві (в тому числі дифузне захворювання тіла Леві), афазія (в тому числі первинна афазія та синдроми первинної афазії), гіпотензивні синдроми та хронічні коліти, в тому числі хвороба Крона, котрі (способи) включають введення в організм пацієнта, котрий потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I. Тобто цей винахід передбачає застосування сполуки Формули I або її фармацевтичної композиції для виготовлення лікарського засобу для лікування розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами.

Мається на увазі, що терміни "лікування", "лікувати" охоплюють покращення симптоматики, пов'язаної з кожним з описаних в цьому документі розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами. Мається на увазі також, що фахівець може вплинути на згадані розлади шляхом лікування пацієнта, котрий на даний час страждає на такий розлад, або шляхом профілактичного лікування пацієнта, котрий вважається схильним до таких розладів, ефективною кількістю сполуки Формули I. Таким чином, терміни "лікування", "лікувати" стосуються всіх процесів, до яких належать сповільнення, переривання, припинення, регулювання або зупинення розвитку розладів, описаних в цьому документі, але не обов'язково означають повне усунення всіх симптомів розладу, а також охоплюють профілактику таких розладів.

Мається на увазі, що цей винахід охоплює комплексне лікування розладів, описаних в цьому документі. Більш конкретно, сполуки Формули I є корисними при лікуванні розладів, при яких одним із симптомів є погіршення пізнавальної здатності, в комбінації з різноманітними іншими терапевтичними агентами, зокрема, в комбінації з підсилювачами поглинання аденозинмонофосфату (AMPA); з типічними та атипічними антипсихотичними агентами, в тому числі з оланзапіном; із різноманітними агентами, наприклад, з агоністами mGluR, з антагоністами N-метил-D-аспартату (NMDA), з інгібіторами IL 1-6, з іншими холінергічними агентами, в тому числі з інгібіторами холінестерази, наприклад, такрином та донепезилом, та зі сполуками, які інгібують перероблення амілоїдних протеїнів, в тому числі з інгібіторами перероблення амілоїдних попередників протеїнів та антитілами, спрямованими проти амілоїдних протеїнів; з антидепресантами, в тому числі із селективними (SSRI) та неселективними інгібіторами засвоєння серотоніну (SNRI), наприклад, із флуоксетином, пароксетином та венлафаксином; з анксіолітиками; тощо. Вважається, що вищезгадані комбінації є синергічно сприятливими і забезпечують ефективність при застосуванні в дозах, які складають незначну частку доз, необхідних для досягнення такого самого ефекту в разі застосування окремих компонентів.

Згідно з вищезгаданими способами комплексного лікування, цей винахід пропонує також продукт, котрий містить сполуку Формули I та один або кілька терапевтичних агентів, вибраних із групи, до якої входять підсилювачі AMPA; типовий та атипів антипсихотичні агенти, в тому числі оланзапін; агоністи mGluR; антагоністи NMDA; інгібітори IL 1-6; інгібітори холінестерази, наприклад, такрин та

донепезил; сполуки, які інгібують перероблення амілоїдних протеїнів, в тому числі інгібітори перероблення амілоїдних попередників протеїнів та антитіла, спрямовані проти амілоїдних протеїнів; антидепресанти, в тому числі SSRI та SNRI, наприклад, флуоксетин, пароксетин та венлафаксин; та анксіолітики, як комплексний препарат для одночасного, окремого або послідовного застосування при лікуванні розладів, при яких одним із симптомів є погіршення пізнавальної здатності. За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує також застосування сполуки Формули I спільно з одним або кількома терапевтичними агентами, вибраними з групи, до якої входять підсилювачі AMPA; типові та атипові антипсихотичні агенти, в тому числі оланзапін; агоністи mGluR; антагоністи NMDA; інгібітори IL 1-6; інгібітори холінестерази, наприклад, такрин та донепезил; сполуки, які інгібують перероблення амілоїдних протеїнів, в тому числі інгібітори перероблення амілоїдних попередників протеїнів та антитіла, спрямовані проти амілоїдних протеїнів; антидепресанти, в тому числі SSRI та SNRI, наприклад, флуоксетин, пароксетин та венлафаксин; та анксіолітики, для виготовлення лікарського засобу як комплексного препарату для одночасного, окремого або послідовного застосування при лікуванні розладів, при яких одним із симптомів є погіршення пізнавальної здатності.

У значенні, вживаному в цьому описі, термін "одночасне, окреме або послідовне застосування" означає, що два або більше терапевтичних агентів застосовуються в межах періоду часу, який забезпечує виявлення певного лікувального ефекту всіх згаданих терапевтичних агентів у певний момент часу. Інакше кажучи, періоди терапевтичної активності мають щонайменше частково перекриватися один з одним, хоча вони не обов'язково мають бути одночасними.

Термін "пацієнт" у значенні, вживаному в цьому описі, означає ссавця, котрий страждає на один або кілька розладів, пов'язаних із мускариновими рецепторами. Мається на увазі, що прикладами живих істот, які охоплюються цим терміном, є морські свинки, собаки, коти, пацюки, миші, коні, велика рогата худоба, вівці, свині та люди.

У значенні, вживаному в цьому описі, термін "ефективна кількість" сполуки Формули I означає кількість (тобто дозу), ефективну з точки зору лікування описаних в цьому документі розладів.

Ефективну кількість може без утруднень визначити діагност, який веде хворого, застосовуючи звичайні методики та спостерігаючи результати, одержані в аналогічних випадках. При визначенні ефективної кількості (дозы) сполуки Формули I діагност враховує численні фактори, в тому числі (але не тільки) конкретну сполуку Формули I, обрану для застосування; комплексне застосування інших терапевтичних засобів в разі такого застосування; вид ссавця; його розміри, вік та загальний стан здоров'я; конкретний розлад, що підлягає лікуванню; ступінь розвитку або тяжкість згаданого розладу; індивідуальну реакцію пацієнта; спосіб введення; характеристики біодоступності застосовуваного препарату; обраний режим дозування; паралельне застосування інших засобів лікування; та інші релевантні обставини.

Очікується, що ефективна кількість сполуки Формули I варіює в межах від приблизно 0,01мг на кілограм маси тіла на добу (мг/кг/добу) до приблизно 50мг/кг/добу, а перевага віддається дозам від 0,1мг на кілограм маси тіла на добу (мг/кг/добу) до приблизно 20мг/кг/добу. Кількості, яким віддається більша перевага, може визначити фахівець.

Серед розладів, що підлягають лікуванню згідно з цим винаходом, деяким віддається особлива перевага. До розладів, лікуванню яких віддається особлива перевага, належать розлади пізнавальної здатності (особливо помірна недостатність пізнавальної здатності та погіршення пізнавальної здатності, пов'язане із шизофренією), хвороба Альцгеймера та психози, в тому числі шизофренія.

Описані численні передклінічні лабораторні тваринні моделі розладів, згаданих в цьому документі.

#### Приклад А

##### Лабіринт з радіальними ходами

Для дослідження впливу лікарських засобів на збереження пам'яті було застосовано вимірювання кількості помилок при виконанні зразкового завдання у восьмиходовому лабіринті після затримки [Пуссінен та Сірвіо - R. Pussinen and J. Sirvio, J. of Psychopharm. 13:171-179, 1999; Стоблі та інші - U. Staubli et al., Proc. Natl Acad. Sci. 91:777-781, 1994].

Добре натренованим пацюкам давали можливість відшукувати нагороду (їжу) в чотирьох випадково вибраних ходах лабіринту (фаза вибору). Через деякий час (час затримки) пацюкам пропонували вісім відкритих ходів і випробовували їх здатність до згадування та уникнення ходів, до яких вони перед тим заходили для одержання їжі. Повторне відвідання ходу, в який була вміщена принада, на протязі сеансу вибору зараховувався як контрольна помилка, тоді як відвідання одного й того самого ходу більше одного разу на протязі сеансу згадування зараховувалося

як робоча помилка. Сумарна кількість помилок (контрольних та робочих) на протязі сеансу згадування зростає при зростанні періоду затримки. Наприклад, молоді самці пацюків робили 0,66 (+0,4) помилок при затримці 1хв., 2 (+0,5) помилок при затримці 1год. і 3,95 (+0,2) помилок при затримці 7год. (спостереження в лабораторії авторів винаходу).

Самців пацюків лінії Спрег-Дюулі (Sprague-Dawley) утримували в індивідуальних клітках в умовах чергування 12-годинних періодів освітлення та затемнення (початок періоду освітлення о 6-й год. ранку). Тварини мали вільний доступ до води, а масу тіла підтримували на рівні 85% маси при вільному харчуванні шляхом додаткового підгодовування лабораторним кормом "Пуріна".

Спочатку пацюків тренували на пошук їжі в кінці кожного з восьми ходів лабіринту. Коли тварини досягали критерію, який відповідав кількості не більше 2 помилок (тобто відвідання одного й того самого ходу більше одного разу на протязі сеансу) на протязі трьох послідовних днів, між четвертим та п'ятим сеансами вибору ходів виконували затримку протягом 1хв. Таке тренування забезпечувало повне звикання тварин до процедурних аспектів завдання перед застосуванням будь-яких лікарських засобів. Після досягнення стабільних показників при затримці виконання завдання (тобто не більше однієї помилки за сеанс на протязі трьох послідовних днів) починали випробування лікарських засобів та носія при 7-годинній затримці. Кожного дня приладу вміщували в нову сукупність ходів для кожного пацюка, а в період затримки лабіринт ретельно чистили.

При сеансі вибору кожен тварину вміщували на центральній платформі з доступом до всіх восьми блокованих ходів лабіринту. В чотири випадково вибраних ходи вміщували їжу. Піднімали дверця ходів із принадою і давали пацюку п'ять хвилин для відшукування їжі в кінці кожного з чотирьох ходів. Як тільки тварина одержувала їжу, її виймали з лабіринту, вводили їй носій або різні дози випробовуваної сполуки і переносили в клітку. Через 7год. (сеанс згадування) пацюка знов вміщували на центральній платформі з доступом до всіх восьми блокованих ходів лабіринту. Вносили приладу в ті самі чотири ходи, в які була вміщена прилада в сеансі вибору, і піднімали дверця всіх восьми ходів. Давали пацюку п'ять хвилин для одержання залишкових чотирьох порцій принади. Вхідження в хід без принади або повторне відвідання ходу, де тварина вже була перед тим, зараховувалося як помилка. Для зіставлення з контрольними дослідженнями визначали критерій значущості ( $p < 0,05$ ), застосовуючи повторний об'ємний аналіз варіантів (ANOVA) згідно з тестом Дюннетта (Dunnett).

З метою зіставлення випробовуваних сполук зі стандартами тваринам безпосередньо перед фазою вибору вводили підшкірно скополамін та такрин. Вплив скополаміну, який є відомим агентом спричинення амнезії, випробовували після 3-годинної затримки, а вплив такрину - інгібітора холінестерази, який застосовується при лікуванні хвороби Альцгеймера, - випробовували після 6-годинної затримки. Скополамін припиняв згадування після 3-годинної затримки, ступінь ефекту залежав від дози. Такрин значно покращував згадування після 6-годинної затримки при дозі 10мг/кг, але при 3мг/кг ефекту не виявлено.

#### Приклад В

Сприйнятливість (випробування на сприйнятливості в 8-ходовому радіальному лабіринті)

Відомою особливістю симптоматики ранньої фази хвороби Альцгеймера є виразне погіршення декларативної пам'яті ["Нейропсихологія хвороби Альцгеймера та інших видів деменції", під ред. Паркса, Зека та Уїлсона - *Neuropsychology of Alzheimer's disease and other dementias*, R.W. Parks, R.F. Zee and R.S. Wilson (Eds.), NY, Oxford Univ. Press, p.3-80 (1993)].

В процесі розвитку захворювання наступають тяжкі ураження також інших сфер пізнавальної здатності. Поряд з іншими зонами мозку, на ранніх стадіях хвороби Альцгеймера зазнає ураження гіпокамп, котрий є нервовим субстратом вирішального значення для декларативної пам'яті. Існують відмінності в картинах втрати нейронів гіпокампу при нормальному старінні та при хворобі Альцгеймера (Lancet, 344:769-772, 1994). Одним із тестів поведінки, який часто застосовують для оцінки функцій гіпокампу у піддослідних тварин, є випробування в 8-ходовому радіальному лабіринті (Олтон - Olton D.S. The radial arm maze as a tool in behavioral pharmacology. *Physiology and Behavior*, 40:793-797, 1986).

Пошкодження або фармакологічне блокування гіпокампу порушує характеристики при цьому тесті. Крім того, тварини старшого віку взагалі гірше виконують завдання цього тесту [Порсолт, Ру та Веттштайн - Porsolt R.D., Roux S. and Wettstein J.G. Animal models of dementia. *Drug Development Research*, 35:214-229, 1995].

В цьому тесті на просторове навчання та пам'ять голодного пацюка вміщують в центр лабіринту і дають йому пересуватися по лабіринту в пошуках їжі, вміщеної в кінці кожного ходу. В цьому варіанті лабіринту пацюк навчається стратегії "виграшу зі зсувом", за якою пройдений хід не замінюється. Тому найбільш ефективною стратегією харчування є одноразове відвідування кожного ходу. Цей

варіант лабіринту також застосовується при загальних процесах навчання, оскільки лабіринт не є знайомим для пацюка в перший день чотириденного експерименту.

Після одержання від постачальника самців пацюків лінії Спрег-Доулі утримували в індивідуальних клітках в умовах регулярного чергування періодів освітлення та затемнення в загальному приміщенні віварію і давали акліматизуватися протягом щонайменше 4 днів перед початком випробування. Масу тіла кожного пацюка знижували до 85% нормальної і підтримували на цьому рівні протягом експерименту. Відповідну масу тіла підтримували шляхом вибору кількості лабораторного корму з урахуванням віку та щоденного контролю маси тіла тварини.

Сеанс випробування починали з того, що окремого пацюка вміщували в центр лабіринту і піднімали всі дверцята (гілйотинного типу), відкриваючи доступ у всі частини лабіринту. В кінці кожного з 8 ходів був встановлений бункер для корму, і в кожний бункер вміщували одну гранулу їжі. Щоденний сеанс закінчували або після відвідання всіх 8 бункерів, або після збігання певного часу (15хв. в 1-й день і 5хв. у дні з 2-го по 4-й). Реєстрували кількість відвідань ходів. Як помилки враховувалися повторні відвідання ходів або невідвідування ходів на протязі сеансу. Тварину виключали з експерименту, якщо вона не відвідувала щонайменше 1 хід в 1-й день, 2 ходи в 2-й день і щонайменше 4 ходи в 3-й та 4-й дні.

Пацюків розподіляли за псевдо-випадковою схемою між групами, що одержували носій або випробовувану сполуку; тварин кожної групи протягом експерименту обробляли однаково. Носієм був 5% розчин гуміарабіку в стерильній воді. Ін'єкції виконували підшкірно за 20-30хв. перед кожним щоденним сеансом тестування.

В цьому тесті на сприйнятливість у тварин, що одержували носій, не виявлено значущого покращення сприйнятливості при вивченні лабіринту порівняно з кількістю помилок, припущених в 1-й день. З'ясовано, що ефект сполук, котрі покращують сприйнятливість при вивченні лабіринту, часто виявляється тільки на 4-й день тренування. Тому результати характеризували загальною кількістю припущених у 4-й день помилок у групі тварин, що одержували випробовувану сполуку.

#### Приклад С

##### Функціональна мобілізація внутрішньоклітинного кальцію

Клітини CHO (яєчників китайського хом'яка) з експресією мускаринових підтипів (M1-M5) вирощували в формі моношарів у середовищі DMEM:F-12 (3:1), 10% FBSnz, 20мМ HEPES, 1% пеніциліну/стрептоміцину, 250мкг/мл G418 (GibcoBRL №10131-027). Клітини витримували в атмосфері 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub> і пересівали через кожні 3-4 дні. Клітини висівали за 24год. до випробування при густині 50000 на лунку та за 48год. до випробування при густині 25000 на лунку (100мкл/лунку) на 96-лункові планшети з чорними стінками та прозорим дном (Costar №3603). Потім клітини інкубували протягом 60хв. при 37°C в атмосфері, що містила 5% CO<sub>2</sub>, з мінімальною кількістю середовища, що містило індикатор цитоплазматичного Ca<sup>2+</sup> Fluo-3 (1мМ Fluo, змішаного в співвідношенні 1:1 з 20% плуроновою кислотою, потім розбавленого в процесі росту до кінцевої концентрації 5мкМ і доданого в концентрації 2,5мМ, 50мкл/лунку). Клітини двічі промивали (100мкл/лунку) промивальним буфером, який містив врівноважений сольовий розчин за Хенком (HBSS) без фенолового червоного (1X) (GibcoBRL №14065-056), 20мМ HEPES (Sigma №P8761) та пробенецид (Probenecid) (2,5мМ) (100X:1:100). Для випробування в кожну лунку додавали 100мкл (100мкл лікарської речовини 2X за допомогою пристрою FLIRP). Промивали планшети тричі, застосовуючи багатоканальну піпетку LabSystems, і видаляли залишковий буфер. Планшети також промивали на папері для видалення залишку випробовуваних сполук.

Виготовляли сполуки в розведенні 2X (100мкл лікарської сполуки додавали до 100мкл випробувального буфера, присутнього в лунці) в випробувальному буфері, який містив 2% ДМСО, HBSS без фенолового червоного (1X) (GibcoBRL №14065-056), 20мМ HEPES (Sigma №P8761) та пробенецид (2,5мМ) (100X: 1:100).

Потім планшети вміщували в прилад FLIRP (флуориметричний сканер для планшетів, виріб фірми Molecular Devices, Sunnyvale, CA) і контролювали флуоресценцію лунок (довжина хвилі збудження 488нм, довжина хвилі випромінювання 540нм) перед та після додання випробовуваних сполук.

Селективність агоністів M1 оцінювали шляхом скринінгу в порівнянні з іншими підтипами мускаринових рецепторів (M3 та M5) в тих самих умовах як у "режимі" агоніста, так і антагоніста. Скринінг сполук виконували також із застосуванням ряду протеїнів-мішеней, а також структурно подібних мішеней - рецепторів, сполучених із протеїном G (GPCR) для гарантування селективності відносно рецептора M1.

#### Приклад D

##### Функціональне зв'язування GTP

Культури клітин. Клітини CHO, трансфіковані рецепторами M1-M5 людини, вирощували в суспензії або в моношарі. Для суспензійних культур клітини



виросували в ролерних склянках при постійному перемішуванні при 37°C в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> в суміші (1:3) модифікованого за Дюльбекко середовища Іглза (Eagles) з F-12 з домішкою 5% сироватки плоду корови, 50мкг/мл тобраміцину та 20мМ HEPES. Моношарові культури вирощували в склянках T-225 при 37°C в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> в модифікованому за Дюльбекко середовищі Іглза з домішкою 10% сироватки плоду корови та 100000Од/л пеніциліну/стрептоміцину. Клітини збирали після 95% злиття із застосуванням вільного від трипсину дисоціаційного середовища, відділяли центрифугуванням і зберігали при -80°C. Клітини зі стабільною експресією мускаринових рецепторів людини одержували від Національного Інституту охорони здоров'я.

Підготовка мембран. Осаджені клітини розморожували і суспендували в 20 об'ємах 20-мМ натрій-фосфатного буфера, pH7,4, і двічі гомогенізували протягом 30 с при високій швидкості на приладі Tissuemizer. Гомогенати центрифугували при 200g протягом 15хв. при 4°C. Надосадову рідину видаляли і зберігали на льоду. Цю процедуру повторювали двічі, і об'єднані надосадові рідини потім центрифугували при 40000g протягом 45хв. при 4°C. Мембрани суспендували в кількості 5мг протеїну на 1мл і зберігали при -80°C. Якщо не зазначене інше в підписах при фігурах, мембрани клітин M1, M2 та M4 одержували з клітин, вирощених в суспензіях, а мембрани клітин M3 та M5 - з клітин, вирощених в моношарах. Густина рецепторів (пмоль/мг мембранного протеїну) становила 9,3; 0,7; 0,6; 0,9 та 4,8 відповідно для рецепторів M1-M5.

Стріарну тканину самців пацюків лінії Спрег-Доулі гомогенізували вручну в 10 об'ємах 10мМ HEPES та 1мМ EGTA, pH7,4, з домішкою суміші для повного інгібування протеаз, 1мМ дитіотреїтолу та 10% сахарози. Гомогенат розбавляли в 6 разів і центрифугували при 1000g протягом 10хв. при 4°C. Надосадову рідину зберігали, а осад знов гомогенізували і центрифугували, як вказано вище. Об'єднані надосадові рідини потім центрифугували при 11000g протягом 20хв. Одержаний осад гомогенізували в 40 об'ємах 10мМ HEPES та 1мМ EGTA, pH7,4, з домішкою 1мМ дитіотреїтолу та 1мМ MgCl<sub>2</sub> і центрифугували при 27000g протягом 20хв. Одержаний осад суспендували в тому самому буфері при концентрації протеїну 1,5мг/мл, аліквотні кількості заморожували і зберігали при -80°C.

Зв'язування GTPγ<sup>35</sup>S. Випробування виконували в середовищі 20мМ HEPES, 100мМ NaCl та 5мМ MgCl<sub>2</sub> при pH7,4 в кінцевому об'ємі 200мкл у 96-лункових планшетах Costar при 25°C. В лунку додавали 100мкл препарату мембран (25мкг протеїну на лунку для клітинних мембран і 9-15мкг на лунку для мозкових мембран), який містив відповідну концентрацію GDP, потім 50мкл буфера ± випробовувані агоністи та антагоністи, а потім 50мкл GTPγ<sup>35</sup>S, забезпечуючи кінцеву концентрацію 200пМ для мембран CHO та 500пМ для мозкових мембран. Для мембран CHO в пробах із рецепторами M1, M3 та M5 застосовували 0,1мкМ GDP, а для проб із рецепторами M2 та M4 - 1мкМ GDP. Для мозкових мембран в пробах, виконуваних з анти-Gαq/11 застосовували 0,1мкМ GDP, а для проб із використанням анти-Gαi(1-3) та анти-Gαo - 50мкМ GDP. Мембрани клітин CHO інкубували протягом 30хв. при 25°C з агоністами та антагоністами, а потім додавали GTPγ<sup>35</sup>S і інкубували ще протягом 30хв. Мозкові мембрани інкубували протягом 20хв. при 25°C з агоністами та антагоністами, а потім додавали GTPγ<sup>35</sup>S і інкубували ще протягом 60хв. Попередню інкубацію застосовували для забезпечення рівноваги агоністів та антагоністів в період введення мітки.

Для визначення сумарного зв'язування з мембранами додавали 50мкл суспензії кульок SPA, покритих агліутиніном з зародків пшениці (WGA). Через 15хв. планшети центрифугували при 1000g протягом 15хв., і вимірювали радіоактивність, застосовуючи лічильник для планшетів Wallac. Для визначення зв'язування зі специфічними G-протеїнами мембрани, мічені <sup>35</sup>S, солюбілізували протягом 30хв. в 0,27% Nonidet-40 (20мкл/лунку розчину, який містив 1,5мл 10% Nonidet-40 на 3,5мл випробувального буфера), а потім додавали бажане антитіло (10мкл/лунку), забезпечуючи кінцеве розведення від 1/400 до 1/100, і інкубували ще протягом 60хв. Додавали в кожну лунку 50мкл суспензії кульок SPA, покритих анти-IgG, інкубували планшети протягом 3год., після чого центрифугували і визначали радіоактивність, як вказано вище. Кожну склянку кульок SPA, покритих WGA, суспендували в 10мл випробувального буфера, а кожну склянку кульок SPA, покритих анти-IgG, суспендували в 20мл випробувального буфера. Протеїн визначали, застосовуючи пробу з біцинхоніновою кислотою.

Матеріали. <sup>35</sup>S-GTPγS (1000-2000Ки/ммоль), кульки SPA, покриті антикролячим IgG та антимишачим IgG, та кульки SPA, покриті WGA, одержували від фірми Amersham (Arlington Heights, IL). Анти-Gαq/11 кролика та анти-Gαi(1-3) кролика одержували від фірми Santa Cruz Biotechnologies (Santa Cruz, CA). Моноклональне анти-Gαo миші одержували від фірми Chemicon (Temecula, CA). Оксотреморин M та пірензепін одержували від фірми Research Biochemicals Inc. (Natick, MA). 1-[(2-((діетиламіно)метил)-1-піперидиніл)ацетил]-5,11-дигідро-6Н-піrido[2,3b]-[1,4]бензодіазепін-6-он (AFDX 116) був синтезований фірмою Eli Lilly. Суміш для

повного інгібування протеаз та 10% Nonidet-40 одержували від фірми Boehringer Mannheim (Indianapolis, IN).

Селективність агоністів M1 оцінювали шляхом скринінгу в порівнянні з іншими підтипами мускаринових рецепторів (M2 та M4) як у "режимі" агоніста, так і антагоніста. Скринінг сполук виконували також із застосуванням ряду протеїнів-мішеней, а також структурно подібних мішеней - рецепторів, сполучених із протеїном G (GPCR) для гарантування селективності відносно рецептора M1.