

Цей винахід стосується заміщених похідних арил-1,4-піразину та способів їх отримання, фармацевтичних композицій, що їх містять, та способів їх застосування для лікування розладу або стану, на котрий може діяти чи сприяти йому антагонізм рецептору ФВК, охоплюючи, але без обмеження, розлади, які індукує або сприяє їм ФВК, як-то розлади з компонентом тривоги, та пов'язані з депресією та стресом розлади. Крім того, цей винахід стосується застосування таких сполук як зондів для локалізації рецепторів ФВК₁ у клітинах чи тканинах.

Фактор вивільнення кортикотропіну (ФВК) є пептидом з 41 амінокислоти, що є первинним фізіологічним регулятором секреції похідного від проопіомеланокортину (ПОМК) пептиду з переднього гіпофізу [J. Rivier et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 80:4851 (1983); W. Vale et al., *Science* 213:1394 (1981)]. На додаток до його ендокринної ролі у гіпофізі, імуногістохімічна локалізація ФВК показала, що гормон має широкий екстрагіпоталамічний розподіл у центральній нервовій системі та виробляє широкий спектр автономної, електрофізіологічної та поведінкової дії, сумісної з нейромедіаторною або нейромодуляторною роллю у мозку [W. Vale et al., *Rec. Prog. Horm. Res.* 39:245 (1983); F. Koob, *Persp. Behav. Med.* 2:39 (1985); E.B. De Souza et al., *J. Neurosci.* 5:3189 (1985)]. Є також свідчення, що ФВК грає значну роль в інтегруванні реакцій в імунній системі на фізіологічні, психологічні та імунологічні стресори [J.E. Blalock, *Physiological Reviews* 69:1 (1989); J.E. Morley, *Life Sci.* 41:527 (1987)].

Є свідчення, що ФВК грає роль у психіатричних розладах та неврологічних хворобах, охоплюючи депресію, розлади, пов'язані з тривогою та розлади харчування. Роль ФВК також встановлена в етіології та патофізіології хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, хвороби Хантингтона, прогресуючого супрануклеарного паралічу та бічного аміотрофічного склерозу, оскільки вони стосуються дисфункції ФВК нейронів у центральній нервовій системі [для огляду дивись: E.B. De Souza, *Hosp. Practice* 23:59 (1988)].

Розлади з компонентом тривоги є групою хвороб, відомих у галузі, а саме фобічні розлади, стани тривоги, пост-травматичний стрес-розлад та атипові розлади з компонентом тривоги [The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 16th edition (1992)]. Емоційний стрес є часто продукувальним фактором у розладах з компонентом тривоги, і такі розлади загалом чутливі до ліків, що знижують реакцію на стрес.

В афективному розладі або глибокій депресії, концентрація ФВК є значно збільшеною у спинномозковій рідині (СМР) осіб, що не приймали ліків [C.B. Nemeroff et al., *Science* 226:1342 (1984); C.M. Banki et al., *Am. J. Psychiatry* 144:873 (1987); R.D. France et al., *Biol. Psychiatry* 28:86 (1988); M. Arato et al., *Biol. Psychiatry* 25:355 (1989)].

Крім того, густина рецепторів ФВК є значно зменшеною у лобній корі самовбивць, що сумісно з гіперсекрецією ФВК [C.B. Nemeroff et al., *Arch. Gen. Psychiatry* 45:577 (1988)]. На додаток, є притуплена адреноректорінопінова реакція (АКТГ) на ФВК (внутрішньовенне застосування) спостережена у пацієнтів з депресією [P.W. Gold et al., *Am. J. Psychiatry* 141:619 (1984); F. Holsboer et al., *Psychoneuroendocrinology* 9:147 (1984); P.W. Gold et al., *New Engl. J. Med.* 314:1129 (1986)]. Предклінічні дослідження на щурах та приматах дають додаткову підтримку гіпотези, що гіперсекреція ФВК може приймати участь у симптомах, спостережених у депресії людини [R.M. Sapolsky, *Arch. Gen. Psychiatry* 46:1047 (1989)]. Є також попередні свідчення, що трициклічні антидепресанти можуть змінювати рівні ФВК та таким чином модулювати ряд рецепторів у мозку [Grigoriadis et al., *Neuropsychopharmacology* 2:53 (1989)].

ФВК також залучено в етіології розладів, пов'язаних з тривогою, та, як відомо, створюють анксиогенну дію у тварин. Взаємодії між бензодіазепіновими/небензодіазепіновими анксиолітиками та ФВК показані у різних поведінкових моделях тривоги [D.R. Britton et al., *Life Sci.* 31:363 (1982); C.W. Berridge та A.J. Dunn *Regul. Peptides* 16:83 (1986)]. Попереднє дослідження застосування припустимого антагоністу рецептору ФВК α -спірального овечого ФВК (9-41) у різних поведінкових парадигмах показує, що антагоніст виявляє "анксиолітично-подібну" дію, що є якісно подібною бензодіазепінам [C.W. Berridge та A.J. Dunn *Horm. Behav.* 21:393 (1987); *Brain Research Reviews* 15:71 (1990)].

Нейрохімічні, ендокринні дослідження та дослідження зв'язування рецептору показали взаємодії між ФВК та бензодіазепіновими анксиолітиками, забезпечуючи наступне свідчення стосовно залучення ФВК у цих розладах. Клодіазепоксид послаблює "анксиогенну" дію ФВК у конфліктному тесті [K.T. Britton et al., *Psychopharmacology* 86:170 (1985); K.T. Britton et al., *Psychopharmacology* 94:306 (1988)] та у тесті акустичного переляку [N.R. Swerdlow et al., *Psychopharmacology* 88:147 (1986)] на щурах. Антагоніст бензодіазепінового рецептору Ro 15-1788, котрий не мав поведінкової активності сам по собі в оперантному конфліктному тесті, інвертував дію ФВК залежним від дози чином, а бензодіазепіновий інверсний агоніст FG 7142 посилював дію ФВК [K.T. Britton et al., *Psychopharmacology* 94:396 (1988)]. Механізми та ділянки дії, через котрі звичайні анксиолітики та антидепресанти виявляють свою терапевтичну дію, залишаються невідомими. Попередні дослідження дії пептиду антагоністу рецептору ФВК₁ (α -спірального ФВК₉₋₄₁) у різних поведінкових парадигмах, показали, що антагоніст ФВК₁ виробляє "анксиолітично-подібну" дію якісно подібну бензодіазепінам [для огляду дивись: G.F. Koob and K.T. Britton, In: *Corticotropin-Releasing Factor: Basic and Clinical Studies of a Neuropeptide*, E.B. De Souza and C.B. Nemeroff eds., CRC Press p.2 21 (1990)].

Застосування антагоністів ФВК₁ для лікування синдрому X також описано у заявці на патент США №09/696,822, зареєстровано жовтня 26, 2000, зараз розглянуто як патент США №6,589,947 та Європейській заявці на патент №03094414, зареєстровано жовтня 26, 2000, котрі також надані як посилання. Способи застосування ФВК₁ антагоністи для лікування застійної серцевої недостатності описані у США Serial №09/248,073, зареєстровано лютого 10, 1999, зараз патент США 6,043,260 (Березень 28, 2000), котрі також надані як посилання.

ФВК, як відомо, мають широкий екстрагіпоталамічний розподіл у центральній нервовій системі, сприяючи широкому спектру автономної поведінкової та фізіологічної дії [дивись, наприклад, Vale et al., 1983; Koob, 1985; та E.B. De Souza et al., 1985]. Наприклад, концентрації ФВК значно збільшені у спинномозковій рідині пацієнтів, що потерпають від афективного розладу або глибокої депресії [дивись, наприклад, Nemeroff et al., 1984; Banki et al., 1987; France et al., 1988; Arato et al., 1989]. Більш того, надлишкові рівні ФВК, як відомо, створюють анксиогенну дію у тваринній моделі [дивись, наприклад, Britton et al., 1982; Berridge та Dunn, 1986 та 1987], а

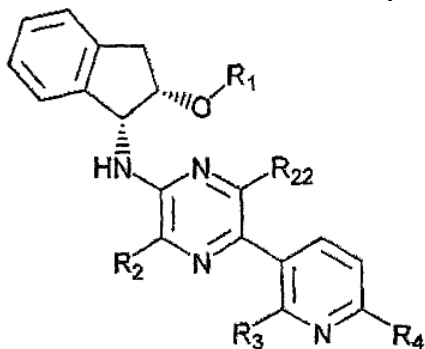
антагоністи 5-HT_{1A} , як відомо, створюють анксиолітичну дію; відповідно, терапевтично ефективні кількості сполук, запропонованих тут, наприклад, визначають оцінкою анксиолітичної дії різної кількості сполук у таких тваринних моделях.

Наступні патенти або заявки на патент розкривають сполуки як антагоністи рецепторів 5-HT_{1A} : WO01/60806, WO97/35901, WO98/29119, WO97/36886, WO97/36898, та патенти США №№5,872,136, 5,880,140, та 5,883,105. Сполуки корисні для лікування пов'язаних з центральною нервовою системою розладів, зокрема афективних розладів та гострих та хронічних неврологічних розладів.

Публікація патенту США 2003-0144297, надана як посилання, також розкриває сполуки як антагоністи 5-HT_{1A} .

Ми виявили, що сполуки формули I, описані нижче, а також їх фармацевтично прийнятні солі, є антагоністами 5-HT_{1A} та корисні у лікуванні розладів та хвороб, асоційованих з рецепторами 5-HT_{1A} охоплюючи пов'язані з центральною нервовою системою розлади та хвороби.

Таким чином, цей винахід стосується сполуки формули I,



або її фармацевтично прийнятної солі, де

R_1 - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, C_1 - C_6 алкініл, $C(O)C_1$ - C_6 алкіл, $C(O)C_1$ - C_6 алкеніл або $C(O)C_1$ - C_6 алкініл;

R_2 - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл;

R_{22} - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл;

R_3 - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, C_1 - C_6 алкініл, галоген, OC_1 - C_6 алкіл, OC_1 - C_6 алкеніл, або Od - C_6 алкініл;

R_4 - d - C_6 алкіл, Ci - C_6 алкеніл, d - C_6 алкініл, галоген, OCi - C_6 алкіл, Od - C_6 алкеніл, OC_1 - C_6 алкініл або NR_5R_6 ;

R_5 - гідроген, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл;

та

R_6 - гідроген, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу лікування розладу або хвороби, що асоційовані з рецепторами 5-HT_{1A} , або розладу, на лікування котрого може діяти чи сприяти йому антагонізм 5-HT_{1A} , у ссавця, зокрема у людини, як-то генералізований розлад з компонентом тривоги, соціальний розлад з компонентом тривоги; розлад панічного типу; obsесивно-компульсивний розлад; хвороблива тривога при депресивному нездужанні; афективний розлад; тривога; розлади харчування; та депресії, спосіб полягає у застосуванні до ссавця сполуки формули I.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується фармацевтичної композиції, що містить фармацевтично прийнятний носій або наповнювач та сполуку винаходу. Сполука винаходу у композиції може бути у кількості, що є терапевтично ефективною для лікування розладу або хвороби, що асоційовані з рецепторами 5-HT_{1A} або розладу, на лікування котрого може діяти чи сприяти йому антагонізм 5-HT_{1A} , у ссавця, зокрема у людини.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу лікування розладу з гіперсекрецією 5-HT у ссавця, що полягає у застосуванні до ссавця терапевтично ефективною кількістю сполуки винаходу.

Переважно, ссавцем є ссавець, який потребує лікування, описаного тут.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу відбору лігандів для рецепторів 5-HT_{1A} спосіб полягає у: а) проведенні аналізу конкурентного зв'язування з рецепторами 5-HT_{1A} сполук винаходу, котрі помічено відривною міткою, та кандидатурного ліганду; та б) визначення здатності вказаного кандидатурного ліганду до заміщення вказаної міченої сполуки.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу визначення рецепторів 5-HT у тканині, який полягає у: а) контактуванні сполуки винаходу, котру помічено відривною міткою, з тканиною, в умовах, що дозволяють приєднання сполуки до тканини; та б) визначення міченої сполуки, приєднаної до тканини.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу інгібування зв'язування 5-HT з рецептором 5-HT_{1A} , який полягає у контактуванні сполуки винаходу з розчином, що містить клітини, що експресують рецептор 5-HT_{1A} , де сполука є у розчині у концентрації, достатній для інгібування приєднання 5-HT до рецептору 5-HT_{1A} .

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується способу зменшення рівня зв'язування 5-HT in vitro до клітини, що експресує рецептор 5-HT_{1A} , який полягає у контактуванні сполуки згідно з пунктом 1 з розчином, що містить клітини, де сполука є у розчині у концентрації, достатній для зменшення рівнів зв'язування 5-HT з клітинами in vitro.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується виробу, що містить: а) пакувальний матеріал; б) сполуку винаходу; та с) мітку або упаковану у вказаний пакувальний матеріал вставку, яка свідчить, що вказана сполука є ефективною для лікування розладу або хвороби, що асоційовані з рецепторами 5-HT_{1A} , або розладу, на лікування котрого може діяти чи сприяти йому антагонізм 5-HT_{1A} , у ссавця.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується застосування сполуки винаходу в аналізі зв'язування, де одну чи більше сполук можна приєднати до мітки, де мітка може безпосередньо або

опосередковано давати відкривний сигнал. Різні мітки охоплюють радіоізотопи, люмінофори, хемілюмінофори, молекули, частинки для специфічного зв'язування, наприклад, магнітні частинки, тощо.

Згідно з ще одним аспектом заявлений винахід стосується застосування сполук винаходу (зокрема мічених сполук цього винаходу) як зондів для локалізації рецепторів у клітинах та тканинах та як стандарти та реагенти для застосування у визначенні характеристик зв'язування рецептором тест-сполук.

Зразкові втілення винаходу охоплюють сполуки формули I, у котрих R_1 - етил або $C(O)CH_3$.

Зразкові втілення винаходу також охоплюють сполуки формули I, у котрих R_2 - етил та R_{22} - етил.

Зразкові втілення винаходу також охоплюють сполуки формули I, у котрих R_3 - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл.

Зразкові втілення винаходу також охоплюють сполуки формули I, у котрих R_4 - NR_5R_6 .

Зразкові втілення винаходу також охоплюють сполуки формули I, у котрих R_3 - C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкеніл, або C_1 - C_6 алкініл, а R_4 - NR_5R_6 .

Зразкові втілення винаходу також охоплюють сполуки формули I, у котрих R_3 - метил, а R_4 - $N(CH_3)_2$.

Сполука винаходу може виявляти сприятливу розчинність у воді та шлункових рідинах. Як приклад, сполука винаходу, де R_4 - NR_5R_6 може виявляти сприятливу розчинність у воді та шлункових рідинах. Як ще один приклад, сполука винаходу, де R_3 - C_1 - C_6 алкіл, а R_4 - NR_5R_6 може виявляти сприятливу розчинність у воді та шлункових рідинах. У наступному зразковому втіленні сполука винаходу, де R_3 - метил, а R_4 - $N(CH_3)_2$ може виявляти сприятливу розчинність у воді та шлункових рідинах.

При застосуванні тут "галоген" вибрано з групи: -F, -Cl, -Br та -I.

При застосуванні тут термін " C_1 - C_6 алкіл" означає насичену частину з лінійним чи розгалуженим ланцюгом частину з 1-6 атомів карбону.

При застосуванні тут термін " C_1 - C_6 алкеніл" означає частину з лінійним чи розгалуженим ланцюгом з 1-6 атомів карбону, що містить один чи більше подвійних зв'язків.

При застосуванні тут термін " C_1 - C_6 алкініл" означає частину з лінійним чи розгалуженим ланцюгом з 1-6 атомів карбону, що містить один чи більше потрійних зв'язків.

При застосуванні тут термін "фармацевтично прийнятна сіль" стосується солі, отриманої з фармацевтично прийнятної нетоксичної кислоти, охоплюючи неорганічні та органічні кислоти. Придатні нетоксичні кислоти охоплюють неорганічні та органічні кислоти основних залишків як-то амінів, наприклад, оцтова, бензолсульфонова, бензойна, камфорсульфонова, лимонна, етенсульфонова, фумарова, глюконова, глутамінова, бромідна, хлоридна, ізетіонова, молочна, малеїнова, яблучна, мигдальна, метансульфонова, слизова, нітратна, памова, пантотенова, фосфатна, бурштинова, сульфатна, барбарова, п-толуолсульфонова кислота тощо; та лужні або органічні солі кислотних залишків як-то карбонових кислот, наприклад, солі лужних та лужно-земельних металів, похідні від таких основ: натрій гідрид, натрій гідроксид, калій гідроксид, кальцій гідроксид, алюміній гідроксид, літій гідроксид, магній гідроксид, цинк гідроксид, аміак, триметиламіак, триетиламіак, етилендіамін, лізин, аргінін, орнітин, холін, N,N'-добензилетилендіамін, хлорпрокаїн, діетаноламін, прокаїн, н-бензилфенетиламін, діетиламін, піперазин, трис(гідроксиметил)-амінометан, тетрамети-ламоній гідроксид, тощо. Фармацевтично прийнятні солі сполук формули I можна отримувати реакцією вільної кислотної або основної форми цих сполук зі стехіометричною кількістю прийнятною основи або кислоти у воді або в органічному розчиннику, або у суміші двох; загалом, неводні середовища, як-то етер, етилацетат, етанол, ізопропанол, або ацетонітрил є кращими. Перелік придатних солей надано у Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p.1418, розкриття, котрого надане як посилання.

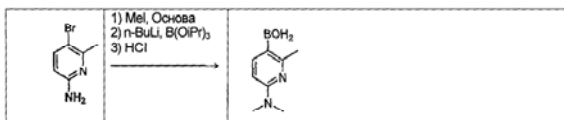
У зразковому втіленні сіль сполуки формули I та п-толуолсульфонові кислоти є фармацевтично прийнятною сіллю сполуки формули I.

Термін "терапевтично ефективна кількість" сполуки цього винаходу означає кількість, ефективну для протидії аномальному рівню ФВК, або лікування симптомів афективного розладу, тривоги, депресії або інших розладів, описаних тут вище.

Термін "сполука винаходу" означає сполуку формули I або її фармацевтично прийнятну сіль.

Заявлений винахід також стосується проліків сполук формули I. Термін "проліки" при застосуванні тут означає будь-який ковалентно приєднаний носій, котрий вивільняє активні вихідні ліки формули I *in vivo* при застосуванні таких проліків до ссавця. Проліки сполук формули I у рамках медичних вимог є придатними для застосування у контакті з тканинами людей та нижчих тварин при надмірній токсичності, подразненні, алергічній реакції, тощо, відповідними прийнятному співвідношенню користь/ризик та ефективними стосовно їх застосування, а також амфійонними формами, де можливо, сполук винаходу. Термін "проліки" означає сполуки, що швидко перетворюються *in vivo*, утворюючи вихідну сполуку формули I, наприклад, гідролізом у крові. Функціональні групи, котрі можуть швидко перетворюватися метаболічним розщепленням *in vivo*, утворюють клас груп, реагуючих з карбоксигрупою сполуки цього винаходу. Вони охоплюють, але без обмеження, такі групи, як алканойл (як-то ацетил, пропіоніл, бутирил, тощо), незаміщений та заміщений ароїл (як-то бензоїл та заміщений бензоїл), алкоксикарбоніл (як-то етоксикарбоніл), триалкілсиліл (як-то триметил- та триетилсиліл), моноестери, утворені з dikarбоновими кислотами (як-то сукциніл), тощо. Внаслідок легкості, з котрою здатні до метаболічного розщеплення групи сполук, корисних згідно з цим винаходом розщеплюються *in vivo*, сполуки, що несуть такі групи, діють як про-ліки. Сполуки, що несуть здатні до метаболічного розщеплення групи мають перевагу в тому, що вони можуть виявляти поліпшену біодоступність як результат збільшеної розчинності та/або швидкості абсорбції, наданої вихідній сполуці у присутності здатної до метаболічного розщеплення групи. Обговорення проліків представлено у Design of Prodrugs, H. Bundgaard, ed., Elsevier, 1985; Methods in Enzymology, K. Widder et al, Ed., Academic Press, 42, p,3 09-396, 25 1985; A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, ed., Chapter 5; "Design and Applications of Prodrugs" p,1 13-191, 1991; Advanced Drug Delivery Reviews, H. Bundgaard, 8, p,1-38, 1992; Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, p. 285, 30 1988; Chem. Pharm. Bull., N. Nakaya et al, 32, p. 692, 1984; Pro-drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi and V. Stella, Vol. 14 of A.C.S. Symposium Series, and Bioreversible Carriers in Drug Design, Edward B.

Схема С зображує утворення зразкових боронових кислот сполучення фрагменту. Воронові кислоти можна отримувати метал-галоген-обміном або способами сполучення з паладієм, відомими спеціалістам.



На додаток до вищенаведених станів сполуки винаходу корисні для лікування різних розладів у ссавця, зокрема людини, як-то соціальний розлад з компонентом тривоги; розлад панічного типу; обсесивно-компульсивний розлад; тривога при депресивному нездужанні; афективний розлад; тривога; депресія; синдром подразненого кишечника; посттравматичний стрес-розлад; супрануклеарний параліч; імунно-пригнічення; шлунково-кишкова хвороба; нервова анорексія або інший розлад харчування; симптоми припинення зловживання ліками або алкоголем; розлад при зловживанні (наприклад, нікотин, кокаїн, етанол, опіати або інші ліки); запальний розлад; проблеми здатності до відтворення потомства; розлади, на лікування котрих може діяти чи сприяти йому антагонізм ФВК₁, охоплюючи, але без обмеження, розлади, які індукує або сприяє їм ФВК; розлад, вибраний із запальних розладів, як-то ревматоїдний артрит та остеоартрит, біль, астма, псоріаз та алергії; генералізований розлад з компонентом тривоги; паніка, фобії, обсесивно-компульсивний розлад; пост-травматичний стрес-розлад; розлади сну, індуковані стресом; больові відчуття, як-то фіброміалгія; розлади настрою, як-то депресія, охоплюючи глибоку депресію, епізодичну депресію, рецидивну депресію, індуковану жорстоким поведінням з дітьми депресію, та післяпологову депресію; психічна депресія; біполярні розлади; циклотімія; синдром стомленості; індукований стресом головний біль; рак, інфекції вірусом імунodefіциту людини (ВІЛ); нейродегенеративні хвороби, як-то хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона та хвороба Хантингтона; розлади шкіри, як-то вугри та псоріаз; шлунково-кишкові хвороби, як-то виразки, синдром подразненого кишечника, хвороба Крона, спастичний коліт, діарея, та кишкова непрохідність після операції та ободова гіперчутливість, асоційована з психопатологічними порушеннями або стресом; геморагічний стрес; індуковані стресом психотичні приступи; еутиреоїдний синдром хворобливості; синдром неприйнятного антидіуретичного гормону (АДГ); ожиріння; нездатність до відтворення потомства; травми голови; травма спинного хребта; ішемічні нейронні пошкодження (наприклад, церебральна ішемія, як-то церебральна гіпокампова ішемія); ексцитотоксичні нейронні пошкодження; епілепсія; серцево-судинні та пов'язані зі слухом розлади, охоплюючи гіпертензію, тахікардію та застійну серцеву недостатність; інсульт; імунні дисфункції, охоплюючи стрес, індуковані імунні дисфункції (наприклад, стрес, індуковані лихоманки, стрес-синдром свиней, лихоманка корів при перевезенні, пароксизмальна фібриляція коней, та дисфункції, індуковані обмеженням свободи у курей, стрес у овець при стрижці, або пов'язаний з взаємодією людина-тварина стрес у собак); м'язові спазми; енурез; сенільна деменція типу Альцгеймера; багатоінфарктна деменція; бічний аміотрофічний склероз; хімічні залежності та схильності (наприклад, залежності від алкоголю, кокаїну, героїну, бензодіазепінів, або інших ліків); остеопороз; психосоціальна наносомія та гіпоглікемія.

Сполуку цього винаходу можна застосовувати для лікування станів, що описано тут, у ссавця або людини, засобами, що створюють контакт активного засобу із ділянкою дії засобу в організмі ссавця або людини. Сполуки можна застосовувати будь-якими звичайними засобами корисними для застосування разом з фармацевтичними засобами як окремий терапевтичний засіб або у комбінації терапевтичних засобів. Їх можна застосовувати самі по собі, але загалом застосовують з фармацевтичним носієм, вибраним на основі шляху застосування та стандартної фармацевтичної практики.

Дозування залежатиме від застосування та відомих факторів, як-то фармакодинамічний характер конкретного засобу, та режиму і шляху його застосування; віку реципієнта, маси, та здоров'я; природи та ступеню симптомів; типу супутнього лікування; частоти лікування; та потрібної дії.

Для застосування у лікуванні хвороб або станів, що описано тут, сполуку цього винаходу можна застосовувати перорально у дозі активного інгредієнту приблизно 0,002-200мг/кг маси тіла. Звичайно, доза 0,01-10мг/кг у поділених дозах 1-4 рази/добу, або у композиції з безперервним вивільненням буде ефективною стосовно потрібної фармакологічної дії.

Активний інгредієнт можна застосовувати перорально у твердих формах дозування, як-то капсули, таблетки та порошки; або у рідких формах, як-то еліксири, сиропи, та/або суспензії. Сполуки цього винаходу можна також застосовувати парентерально у стерильній рідкій дозі композиції. Форми дозування (композиції), придатні для застосування, містять приблизно від 1мг до 100мг активного інгредієнту на одиницю. У цих фармацевтичних композиціях, активний інгредієнт звичайно є у кількості приблизно 0,5-95мас.% від загальної маси композиції.

Сполуки цього винаходу можна також застосовувати як реагенти або стандарти у біохімічних дослідженнях неврологічної функції, дисфункції та хвороби.

Отримання та приклади

Винахід ілюстровано наступними прикладами та отриманнями, котрі не обмежують винахід у рамках.

Приклад А

Аналіз зв'язування рецептору ФВК₁ для оцінки біологічної активності

Наступне є описом виділення мембран мозку щура для застосування у стандартному аналізі зв'язування, а також описом самого аналізу зв'язування на основі модифікованого протоколу, що описано De Souza (De Souza, 1987).

Для отримання мембран мозку для аналізів зв'язування, лобну кору щурів гомогенізують у 10мл охолодженого льодом буферу для тканин (50мМ буферу ГЕПЕС рН 7,0, що містить 10мМ MgCl₂, 2мМ EGTA, 1мкг/мл апротиніну, 1мкг/мл лейпептину та 1мкг/мл пепстатину). Гомогенат центрифугують при 48000 x g протягом 10хвил. та утворену гранулу знов гомогенізують у 10мл буферу для тканин. Після додаткового центрифугування при 48000 x g протягом 10хвил. гранулу ресуспендують до концентрації білку 300мг/мл

Аналізи зв'язування проводять у 96-коміркових планшетах у кінцевому об'ємі 300мкл. Аналізи ініціюють додаванням 150мкл суспензії мембран до 150мкл буферу для аналізу, що містить ¹²⁵I-овечій-ФВК (кінцева

концентрація 150nM) та різні концентрації інгібіторів. Буфер для аналізу є тим же, що описано вище для отримання мембран з додаванням 0,1% яєчного альбуміну та 0,15mM бацитрацину. Зв'язування радіоліганду закінчують після 2 годин при кімнатній температурі фільтруванням через одnofільтрувальні планшети Packard GF/C (попередньо просочені 0,3% поліетиленіном) застосуванням збирача клітин Packard. Фільтри промивають три рази охолодженим льодом буферованим фосфатом фізіологічним розчином з pH 7,0, що містить 0,01% тритон X-100. Фільтри оцінюють стосовно радіоактивності у Packard TopCount. Неспецифічне зв'язування визначають у присутності надлишку (10mM) α -спірального ФВК.

Альтернативно, тканини та клітини, що природно експресують рецептори ФВК, як-то клітини нейробластом людини IMR-32 (ATCC; Hogg et al., 1996), можна застосовувати в аналізах зв'язування, аналогічним описаним вище.

Значення IK_{50} розраховують застосуванням відомих стандартних способів, як-то програмою нелінійної підгонки кривих RS/1 (BBN Software Products Corp., Cambridge, MA). Сполуку вважають активною, якщо вона має значення IK_{50} менше приблизно 10mM для інгібування рецепторів ФВК₁ афінність стосовно зв'язування сполук формули I виражають, як значення IK_{50} у межах приблизно від 0,5nM до приблизно 10mM. Кращі сполуки формули I виявляють IK_{50} 1mM або менше, більш кращі сполуки формули I виявляють IK_{50} менше 100nM або менше, ще кращі сполуки формули I виявляють IK_{50} менше 10nM або менше.

Приклад В. Інгібування стимульованої ФВК аденілатної активності циклази

Інгібування стимульованої ФВК аденілатної активності циклази можна проводити, як раніше описано [G. Battaglia et al., Synapse 1:572 (1987)]. Коротше, аналізи проводять при 37°C протягом 10хв у 200мл буферу, що містить 100mM Трис-НСІ (pH 7,4 при 37°C), 10mM MgCl₂, 0,4mM ЕГТА, 0,1% альбуміну коров'ячої сироватки, 1mM ізобутилметилксантину (IBMX), 250одиниць/мл фосфокреатин-кінази, 5mM креатин-фосфату, 100mM гуанозин 5'-трифосфату, 100nM о-ФВК, пептиди антагоністів (різні концентрації) та 0,8мг вихідної вологої маси тканини (приблизно 40-60мг білку). Реакції ініціюють додаванням 1mM АТФ/[³²P]АТФ (приблизно 2-4мКі/тубу) та закінчують додаванням 100мл 50mM Трис-НСІ, 45mM АТФ та 2% натрій додецилсульфату. Для моніторингу регенерації цАМФ, 1мл [³H]цАМФ (приблизно 40000 розпад/хв) додають до кожної туби для розділення. Відділення [³H]цАМФ від [³²P]АТФ проводять послідовним елюванням через колонки Dowex та з алюміній оксидом.

Альтернативно, аденілатна активність циклази може бути оцінена у 96-комірковому форматі аналізом Adenylyl Cyclase Activation FlashPlate Assay від NEN Life Sciences NEN Life Sciences згідно з доданими протоколами. Коротше, фіксовану кількість радіоміченого цАМФ додають до 96-коміркових планшетів, що попередньо покриті антитілом проти циклічного АМФ. Клітини або тканини додають та стимулюють у присутності або відсутності інгібіторів. Немічений цАМФ, створений клітинами заміщуватиметься радіоміченим цАМФ від антитіла. Приєднаний радіомічений цАМФ виробляє світловий сигнал, що можна визначити застосуванням мікропланшетного сцинтиляційного лічильника, як-то Packard Top-Count. Збільшення кількості неміченого цАМФ призводить до зменшення відкривного сигналу протягом часу інкубування (2-24 години).

Приклади

Отримання 1

(1R,2S)-1-(3,6-Діетил-піразин-2-іламіно)-індан-2-ол

У продутий азотом скляний лінійний реактор на 200л додавали (1R,2S)-(+)-цис-1-аміно-2-інданол (2,5кг, 16,1моль, 1,5екв.), паладій(II) ацетат (72г, 0,3моль, 3мол.%), 2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтил (200г, 0,3моль, 3мол.%) та цезій карбонат (7,0кг, 21,5моль, 2,0екв.), а потім толуол (65л). При перемішуванні до білої суспензії додавали 3-Хлор-2,5-діетил-піразин (1,83кг, 10,7моль, 1,0екв.) при кімнатній температурі та вміст гріли при кипінні під зворотним холодильником (110°C) протягом 2 годин, тоді за даними ВЕРХ реакція завершувалася (4 краплі реакційної суміші гасили водою та тоді екстрагували 1мл МТБЕ, видаляли розчинник та розбавляли 1,5мл СН₃CN/вода). До реакційної суміші додавали метил-трет-бутил-етер (45л) та воду (45л) і шари відокремлювали. Органічний шар промивали ще раз водою (45л) і екстрагували метил-трет-бутил-етером (45л). Комбіновані органічні шари тоді концентрували під вакуумом до мінімального об'єму. Диметилформамід (4гал, E&M Science) додавали та утворений чорний розчин переносили у 20-л бутель. Вихід (1R,2S)-1-(3,6-Діетил-піразин-2-іламіно)-індан-2-олу визначали за допомогою кількісної ВЕРХ (2,27кг, 73%). Цей матеріал застосовували без подальшої очистки. ВЕРХ-час утримання заголовної сполуки 2,1 хв. Колонка 150мм x 4,6мм, Luna 5мкм феніл-гексил; 50/50 СН₃CN/вода + 0,1% TFA з градієнтом до 75/25 + 0,1% СН₃CN/вода + 0,1% TFA.IR (коефіцієнт дифузного відбиття) 3435, 3241, 2962, 2935, 2912, 2873, 1581, 1547, 1500, 1453, 1184, 1163, 1047, 744, 733см⁻¹; OAMS-підтримування іонів при: IEP+ 384,0 ; МС (ХІ) m/z 284 (M⁺); МСВР (БША) розраховано для C₁₇H₂₁N₃O + Н₁ 284,1 763, знайдено 284,1 754. [D]²⁵_D = 12 (с 0,5 5, метилхлорид); Аналіз: розраховано для C₁₇H₂₁N₃O: С, 72,0 6; Н, 7,4 7; N, 14,8 3. Знайдено: С, 72,1 5; Н, 7,5 3; N, 14,4 2.

Отримання 2

(1R,2 S)-оцтової кислоти 1-(3,6-діетил-5-йод-піразин-2-іламіно)-індан-2-іл-естер

У продутий азотом скляний лінійний реактор на 1200л додавали (1R,2S)-1-(3,6-Діетил-піразин-2-іламіно)-індан-2-ол (25кг, 86,1моль, 1,0екв.), 4-диметиламінопіридин (1,0кг, 8,6моль, 10мол.%) та тетрагідрофуран (139л), а потім триетиламін (18кг, 177,9моль, 2,1екв.). До цього розчину додавали оцтовий ангідрид (10,6кг, 103,8моль, 1,2екв.), тримаючи внутрішню температуру менше 30°C. Після перемішування протягом 3 годин при 20-25°C ВЕРХ (3 краплі гасили 1,0мл метанолу, тоді розбавляли 0,5мл води) показала, що реакція не завершувалася. Додатковий оцтовий ангідрид (2,4кг, 23,8моль, 0,3екв.) додавали та вміст перемішували протягом 1 години і знов аналізували та вважали реакцію завершеною. Метанол (6,3кг, 197,2) моль додавали для знищення надлишку оцтового ангідриду та перемішували протягом 1 години, після чого суміш розбавляли метил-трет-бутил-етером (200л) та водою (200л), що містить лимонну кислоту (23,0кг, 119,7моль). Фази відокремлювали та водний шар екстрагували метил-трет-бутил-етером (100л), комбіновані органічні фази промивали 1Н водним натрій гідроксидом (200л) та водою (2x100л). Комбіновані органічні продукти переганяли під вакуумом до об'єму менше 75л і додавали диметилформамід (150л) та концентрацію

продовжували до об'єму приблизно 160л. Цей розчин додавали у другий скляний лінійний реактор на 1200л, що містить N-йодсукцинімід (30,0кг, 133,3моль, 1,5екв.) та гріли до 55°C протягом 3 годин, тоді за даними ВЕРХ реакція завершувалася (3 краплі реакційної суміші гасили водою та тоді екстрагували 1мл МТВЕ, видаляли розчинник та розбавляли 1,5мл CH₃CN/вода). Суміш розбавляли метил-трет-бутил-етером (200л) та обробляли водою (200л), що містить натрій тіосульфат пента-гідрат (22,6кг, 91моль). Шари відокремлювали та водний шар екстрагували метил-трет-бутил-етером (100л). Комбіновані органічні шари промивали водою (3×100л) та тоді переганяли до меншого об'єму під вакуумом, отримуючи сирий (1R,2S)-оцтової кислоти 1-(3,6-діетил-5-йод-піразин-2-іламіно)-індан-2-іл-естер. Очистку робили через силікагель (500кг), елюючи 20/80 ЕтоАс/октаном, збираючи фракції 200-л. Концентрація прийнятих фракцій з додаванням октану дала суспензію, що охолоджували до 0°C, фільтрували та промивали октаном, тоді сушили азотом при 40°C, отримуючи 31,1кг (80%) заголовної сполуки, як білий твердий продукт. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆) δ 7,2 8 (m, 4 H), 6,6 6 (d, J = 9 Гц, 1 H), 5,8 0 (t, 1 H), 5,6 8 (t, 1 H), 3,2 9 (t, 1 H), 3,0 1 (d, J = 17 Гц, 1 H), 2,6 9 (t, 4 H), 1,8 8 (s, 3 H), 1,1 5 (t, 6 H); ¹³C ЯМР (ДМСО-d₆) δ 169,7 2, 153,7 5, 151,0 1, 143,7 3, 141,2 4, 139,8 9, 127,8 0, 126,7 5, 124,7 2, 124,3 9, 100,6 6, 74,3 3, 57,0 1, 36,8 2, 31,0 4, 24,7 1, 20,8 6, 12,6 0, 11,1 7.

Отримання 3 (5-Бром-6-метил-піридин-2-іл)-диметил-амін

До розчину 5-Бром-6-метил-піридин-2-іламіну (4г, 0,021моль) у тетрагідрофурані (105мл) додавали натрій гідрід (60%, 1,2екв. 1г). Після 30хвил. додавали йодметан (1,56мл, 1,2екв.). Після ще 24 годин додавали натрій гідрід (60%, 1,2екв. 1г) та подметан (1,5 6мл, 1,2екв.). Реакційну суміш перемішували 72 години та виливали у 1Н NaOH, екстрагували етил-етером, сушили магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Хроматографія, елюючи сумішшю 2-10%етилацетат/гексан дала заголовну сполуку як масло. (4,3 1г, 96%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,4 5 (d, J=8,7 Гц, 1 H), 6,2 0 (d, J = 8,7 Гц, 1 H), 3,0 1 (s, 6H), 2,4 6 (s, 3H).

Отримання 4 (5-Боронової кислоти-6-метил-піридин-2-іл)-диметил-амін

До розчину (5-Бром-6-метил-піридин-2-іл)-диметил-аміну (1,0г, 0,0046моль) у суміші тетрагідрофуран (1,6мл) / толуол (6,6мл) додавали n-BuLi (2,24мл 2,5М) краплями в атмосфері азоту при -78°C. Після 30хвил. додавали краплями триізопропілборат (1,28мл). Після 30хвил. реакційну суміш гріли до кімнатної температури та перемішували 30хвил і додавали 7мл 1Н HCl. Реакційну суміш перемішували 1Н та гасили до pH 8 1 Н NaOH. Екстракція етилацетатом, сушка магній сульфатом та концентрація дали білий твердий продукт. Розтирання на порошок з гексаном та фільтрування дали заголовну сполуку, як білий твердий продукт 550мг (65%) (400МГц, ДМСО) δ 7,9 0 (гл, 1 H), 6,4 5 (t, 1 H), 3,0 1 (s, 6H), 2,6 3 (s, 3H).

Приклад 1

(1R,2S)-оцтової кислоти 1-[5-(6-диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-іл-естер

У чисту суху тригорлу круглодонну колбу на 1л з мішалкою, трубкою для уведення азоту та зворотним холодильником завантажували тетрагідрофуран (8,60моль; 700мл; 620г), (5-боронової кислоти-6-метил-піридин-2-іл)-диметил-амін (1,00еквів [обмежувальний реагент]; 194ммоль; 35,0г), (1R,2S)-оцтової кислоти 1-(3,6-діетил-5-йод-піразин-2-іламіно)-індан-2-іл-естер (0,500 еквів; 97,2ммоль; 43,9г) Pd(OAc)₂ (0,0 200 еквів; 3,89ммоль; 873мг), 1,1'-Біс(дифенілфосфіно)фероцен (0,0 200еквів; 3,8 9ммоль; 2,1 6г), калій гідрофлуорид, 99-100-мас.% (4,0 0 еквів; 778ммоль; 61,0г). Реакційну суміш гріли до 60°C та тримали протягом 18г. Реакційну суміш тоді охолоджували до кімнатної температури, фільтрували та продукт виділяли хроматографією (20% МЕТВ/Гексан). 42г потрібного продукту отримували. Це застосовували без подальшої очистки. (Низькоплавкий твердий продукт) ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,3 7 (гл, 1 H), 7,2 8 (t, 4 H), 6,4 0 (d, J=8,7 Гц, 1 H), 6,0 5 (t, 1 H), 5,7 2 (t, 1H), 4,8 2 (d, J=9,1 Гц, 1 H), 3,3 3 (dd, J = 17,0, 5,0 Гц, 1 H), 3,0 8 (s, 6 H), 2,0 5 (t, 1 H), 2,6 7 (q, J=7,5 Гц, 2 H), 2,4 9 (q, J=7,5 Гц, 2H), 2,2 3 (s, 3H), 1,9 4 (s, 3H), 1,2 7 (t, 3H), 1,1 2 (t, J=7,5 Гц, 3H); МС: (Вихідний M⁺H m/z = 460,4).

Приклад 2 (1R,2S) Оцтової кислоти 1-[5-(6-диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-іл-естер толуол-4-сульфонової кислоти

У чисту суху промиту 2-Метил-ТГФ круглодонну колбу завантажували 650мл 2-Метил-ТГФ, 65г (1R,2S)-оцтової кислоти 1-[5-(6-диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-іл-естеру. Цей розчин фільтрували у промиту 2-метил-ТГФ 2л круглодонну колб. До цього додавали фільтруванням розчин 150мл 2-Метил-ТГФ та 34,4г п-толуолсульфонової кислоти моногідрату. Розчин солі гріли до 60°C та охолоджували до кімнатної температури. Продукт гранують при кімнатній температурі та виділяють фільтруванням, промивають фільтруванням 2-Метил ТГФ та сушать у вакуумній шафі протягом ночі при 45°C. Продукт (79,2г, 89% виходу) відповідав потрібній структурі та порошкова рентгенографія підтвердили потрібну поліморфну форму. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,8 0 (d, J=8,3 Гц, 2 H), 7,6 7 (d, J = 9,5 Гц, 1 H), 7,3 4 (m, 1H), 7,2 9 (m, 3H), 7,1 5 (d, J=8,7 Гц, 2 H), 6,7 2 (d, J = 9,1 Гц, 1 H), 6,0 3 (m, 1H), 5,7 2 (m, 1H), 4,9 7 (d, J=9,1 Гц, 1 H), 3,3 9 (s, 6H), 3,3 4 (dd, J = 17,4 , 5,4 Гц, 1 H), 3,0 9 (d, J=17,0 Гц, 1 H), 2,6 3 (m, 2 H), 2,5 7 (s, 3H), 2,4 2 (q, J=7,5 Гц, 2 H), 2,3 2 (s, 3H), 1,9 6 (s, 3H), 1,2 7 (t, J=7,5 Гц, 3H), 1,1 5 (t, J=7,5 Гц, 3H); МС: (Вихідний M⁺H m/z = 460,1); Аналіз: розраховано для C₃₄H₄₁N₅O₅S: C, 64,6 4; H, 6,5 4; N, 11,0 8; S, 5,0 7. Знайдено: C, 64,2 7; H, 6,5 7; N, 10,9 4; S, 5,4 1.

Отримання 5 (1R,2S) 1-г5-(6-Диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-ол

До розчину (1R, 2S) 1-(3,6-Діетил-5-йод-піразин-2-іламіно)-індан-2-олу (1г) у бензолі (20мл) додавали (5-Боронової кислот-6-метил-піридин-2-іл)-диметил-амін (880мг, 2екв.), дихлорпаладій дитрифенілфосфін (171мг, 0,1екв.) та 2Н розчин натрій карбонату (4мл) і реакційну суміш гріли при 75°C протягом 18г. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, виливали у насичений гідрокарбонат та екстрагували 2 х етилацетатом. Органічний шар сушили магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очистка ПЕРХ Biotage, елюючи сумішшю 20-40% етилацетат/гексан дала заголовну сполуку (355мг, 36%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,2 3 (m, 5 H), 6,4 0 (d, J=8,3 Гц, 1 H), 6,5 7 (t, J=5,4 Гц, 1 H), 4,8 0 (m, 2 H), 3,2 1 (m, 2 H), 3,0 8 (s, 6 H), 2,7 0 (q, J=7,5 Гц, 2 H), 2,5 1 (q, J=7,5 Гц, 2H), 2,2 3 (s, 3H), 1,2 8 (t, J=7,5 Гц, 3H), 1,1 2 (t, J=7,5 Гц, 3H); МС: (Вихідний M⁺H m/z = 418,3).

Приклад 3

(1R,2S)-5-(6-Диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іл)-(2-етокси-індан-1-іл)-амін

До розчину (1R,2S)-1-[5-(6-Диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-олу (93мг) у диметилформаміді (2,2мл) при 0°C додавали натрій гідрид (11мг, 1,2екв.) під N₂. Після 5хвил. додавали йодетан (1,2екв.). Після 2 годин реакційну суміш виливали у насичений натрій гідрокарбонат, екстрагували метиленхлоридом, сушили магній сульфатом, фільтрували та концентрували. Очистка ПЕРХ Biotage, елюючи сумішшю 5-20% етилацетат/гексан дала заголовну сполуку (61мг). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,4 3 (d, J=6,6 Гц, 1H), 7,2 5 (m, 1H), 7,2 3 (m, 3 H), 6,4 0 (d, J=8,3 Гц, 1 H), 5,7 9 (m, 1 H), 5,2 6 (d, J=7,9 Гц, 1 H), 4,3 5 (m, 1 H), 3,6 6 (m, 1 H), 3,4 6 (m, 1H), 3,1 0 (m, 2H), 3,0 9 (s, 6 H), 2,7 0 (q, J=7,5 Гц, 2 H), 2,5 0 (q, J=7,5 Гц, 2H), 2,2 4 (s, 3H), 1,2 8 (t, J=7,5 Гц, 3H), 1,1 2 (m, 6H); МС: (Вихідний M⁺H m/z = 446,3).

Значення K_i, константи зв'язування з рецептором ФВК₁, вимірювали для зразкових сполук винаходу. Сполука прикладу 1, (1R,2S)-оцтової кислоти 1-[5-(6-диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іламіно]-індан-2-іл-естер, як виявлено, має K_i19нМ. Сполука прикладу 3, (1R,2S)-[5-(6-Диметиламіно-2-метил-піридин-3-іл)-3,6-діетил-піразин-2-іл]-(2-етокси-індан-1-іл)-амін, як виявлено, має K_i13нМ. Ці результати дають міцне свідчення гарної здатності сполук винаходу діяти як антагоністи рецептору ФВК₁.

Специфічні втілення, розкриті тут ілюструють аспекти винаходу без обмеження рамок винаходу будь-яким чином. Будь-які еквівалентні втілення є у рамках цього винаходу. Різні модифікації винаходу на додачу до показаних та описаних тут зрозумілі спеціалістам з вищенаведеного опису. Такі модифікації також є у рамках поданої формули винаходу.