

Даний винахід відноситься до 1-(аміноалкіл)-3-сульфонілазіндолів, що застосовуються як ліганди 5-гідрокситриптамін-6, до способів їх отримання, до способів лікування з їх застосуванням і до фармацевтичних композицій, що містять їх.

Рецептори серотоніну (5-гідрокситриптамін) (5-ГТ) грають критичну роль в багатьох фізіологічних і поведінкових функціях у людини і тварин. Такі функції опосередковуються через різні рецептори 5-ГТ, розподілені в організмі. У цей час існує приблизно п'ятнадцять різних підтипів рецепторів 5-ГТ людини, які клоновані, багато які з них грають добре визначену роль у людини. Одним з недавно ідентифікованих підтипів рецепторів 5-ГТ є рецептор 5-ГТ₆, уперше клонований з тканини щура в 1993 році [Monsma, F.J.; Shen, Y.; Ward, R.P.; Hamblin, M.W. *Molecular Pharmacology* 1993, 43, 320-327] і потім з тканини людини [Kohen, R.; Metcalf, M. A.; Khan, N.; Druck, T.; Huebner, K.; Sibley, D.R. *Journal of Neurochemistry* 1996, 66, 47-56]. Рецептор являє собою зв'язаний з G-білком рецептор (GPCR), позитивно зв'язаний з аденілатциклазою [Ruat, M.; Traiffort, E.; Arrang, J.-M.; Tardivel-Lacombe, L.; Diaz, L.; Leurs, R.; Schwartz, J.-C. *Biochemical Biophysical Research Communications* 1993, 193, 268-276]. Рецептор знайдений практично виключно в центральній нервовій системі (ЦНС), як у щурів, так і у людини. Дослідження гібридизації *in situ* рецептору 5-ГТ₆ в мозку щура із застосуванням мРНК показали основну локалізацію в ділянках проекції 5-ГТ, включаючи стріатум, *neocortex accumbens*, нюхові горбки і гіпокампальні утворення [Ward, R.P.; Harablin, M.W.; Lachowicz, J.E.; Hoffman, B.J.; Sibley, D.P.; Dorsa, D.M. *Neuroscience* 1995, 64, 1105-1111].

Існує безліч потенційних галузей застосування для лігандів 5-ГТ₆ у людини, основаних на прямій дії і на свідченнях з відомих наукових досліджень. Ці дослідження включають локалізацію рецептора, афінність лігандів з відомою *in vivo* активністю і різні дослідження на тваринах, що проводяться аж до цього часу.

Однією з потенційних галузей застосування модуляторів функції рецептора 5-ГТ₆ є поліпшення пізнавальної здатності і пам'яті у людини при таких захворюваннях, як хвороба Альцгеймера. Високі рівні рецептора, знайдені у важливих структурах в передньому мозку, включаючи каудат/шкарлупу, гіпокамп, *neocortex accumbens* і кору головного мозку, передбачають залучення рецептора в функції пам'яті і пізнавальної здатності, оскільки відомо, що ці ділянки грають життєво важливу роль для пам'яті [Garard, C.; Martres, M.-P.; Lefevre, K.; Miquel, M.C.; Verge, D.; Lanfumey, R.; Doucet, E.; Hamon, M.; El Mestikawy, S. *Brain Research*, 1997, 746, 207-219]. Здатність відомих лігандів рецептора 5-ГТ₆ поліпшувати холінергічну трансмісію також підтверджує можливість застосування для поліпшення пізнавальної здатності [Bentley, J.C.; Boursson, A.; Boess, F.G.; Kone, F.C.; Marsden, C.A.; Petit, N.; Sleight, A.J. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 126(7), 1537-1542]. У процесі досліджень було виявлено, що відомий селективний антагоніст 5-ГТ₆ значно підвищує рівні глутамату і аспартату в лобовій корі головного мозку, не збільшуючи рівні норадреналіну, допаміну або 5-ГТ. Таке селективне збільшення нейрохімічних речовин, яке, як відомо, залучене в функції пам'яті і пізнавальної здатності, чітко вказує на роль лігандів 5-ГТ₆ в пізнавальній здатності [Dawson, L.A.; Nguyen, H.Q.; Li, P. *British Journal of Pharmacology*, 2000, 120(7), 23-26]. Дослідження пам'яті тварин і вивчення відомого селективного антагоніста 5-ГТ₆ показали деякий позитивний ефект [Rogers, D.C.; Hatcher, P.O.; Hagan, J.J. *Society of Neuroscience, Abstracts* 2000, 26, 680].

Подібним потенційним терапевтичним застосуванням лігандів 5-ГТ₆ є лікування розладів дефіциту уваги (РДУ, також відомих, як захворювання гіперактивності дефіциту уваги або ЗГДУ) у дітей і у дорослих. Оскільки, схоже, що антагоністи 5-ГТ₆ поліпшують активність нігріостріарного допамінового шляху, і оскільки ЗГДУ пов'язане з аномаліями в каудаті [Ernst, M.; Zametkin, A.J.; Matochik, J.H.; Jons, P.A.; Cohen, R.M. *Journal of Neuroscience* 1998, 18(15), 5901-5907], антагоністи 5-ГТ₆ можуть послабляти розлади дефіциту уваги.

У ранніх дослідженнях, в яких вивчали афінність різних лігандів ЦНС при відомому терапевтичному застосуванні або велику структурну схожість з відомими лікарськими засобами, була запропонована роль лігандів 5-ГТ₆ в лікуванні шизофренії і депресії. Наприклад, клозапін (ефективний клінічний антипсихотичний засіб) має високу афінність до 5-ГТ₆ підтипу рецептора. Також деякі клінічні антидепресанти мають високу афінність до рецептору і діють як антагоністи на цій ділянці [Branchek, T.A.; Blackburn, T.P. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology* 2000, 40, 319-334].

Далі, недавні *in vivo* дослідження на щурах показали, що модулятори 5-ГТ₆ можуть бути корисні при лікуванні розладів руху, включаючи епілєсію [Stean, T.; Routledge, C.; Upton, N. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 127 Proc. Supplement 131P; Routledge, C.; Bromidge, S.M.; Moss, S.F.; Price, G.W.; Hirst, W.; Newman, H.; Riley, G.; Gager, T.; Stean, T.; Upton, N.; Clarke, S.F.; Brown, A.M. *British Journal of Pharmacology*, 2000, 130(7), 1606-1612].

Взяті разом, вказані дослідження твердо підтверджують, що сполуки, які є лігандами 5-ГТ₆, можуть застосовуватися при терапевтичних показаннях, включаючи: лікування захворювань, пов'язаних з дефіцитом пам'яті, пізнавальної здатності і здатності до навчання, таких як хвороба Альцгеймера і розлад дефіциту уваги; лікування розладів особистості, таких як шизофренія; лікування розладів поведінки, наприклад, тривоги, депресії і обсесивно-компульсивних розладів; лікування розладів руху або моторики, таких як хвороба Паркінсона і епілєсія; лікування захворювань, пов'язаних з нейродегенерацією, таких як удар і травма голови; або зняття залежності від лікарських засобів, включаючи залежність від нікотину, алкоголю і інших речовин, що спричиняють звикання.

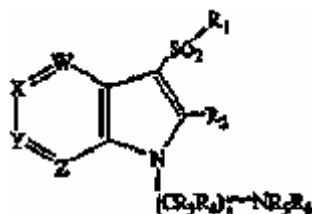
Тому об'єктом даного винаходу є сполуки, які корисні як терапевтичні агенти при лікуванні різних розладів центральної нервової системи, пов'язаних з або що знаходяться під впливом рецептора 5-ГТ₆.

Іншим об'єктом даного винаходу є терапевтичні способи і фармацевтичні композиції, що застосовуються при лікуванні розладів центральної нервової системи, пов'язаних з або що знаходяться під впливом рецептора 5-ГТ₆.

Характерною особливістю даного винаходу є те, що сполуки відповідно до даного винаходу також можуть застосовуватися для подальших досліджень і оцінки рецептора 5-ГТ₆.

Ці і інші об'єкти і характеристики даного винаходу стануть більш зрозумілими з докладного опису, представленого нижче.

Даний винахід відноситься до похідного 1-(аміноалкіл)-3-сульфонілазіндолу формули I



I

де

W є N або CR₇;

X є N або CR₈;

Y є N або CR₉;

Z є N або CR₁₀ за умови, що, принаймні, один, і не більш двох з W, X, Y і Z повинні бути N;

n є цілим числом 2, 3, 4 або 5;

R₁ є необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом, C₃-C₇-циклоалкілом, арилом або гетероарилом, або необов'язково заміщеною 8-13-членною біциклічною або трициклічною системою кілець, що має атом N в основі місточкового зв'язку і необов'язково містить 1, 2 або 3 додаткових гетероатомів, вибраних з N, O або S;

R₂ є H, галогеном або C₁-C₆-алкілом, C₁-C₆-алкокси, C₃-C₇-циклоалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₃ і R₄ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом;

R₅ і R₆ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений, або R₅ і R₆ разом з атомом, до якого вони приєднані, утворюють необов'язково заміщене 5-8-членне кільце, що необов'язково містить додатковий гетероатом, вибраний з O, NR₁₁ або SO_m;

R₇, R₈, R₉ і R₁₀ незалежно є H, галогеном, CN, OCO₂R₁₂, CO₂R₁₃, CONR₁₄R₁₅, SO_pR₁₆, NR₁₇R₁₈, OR₁₉, COR₂₀ або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₆, R₁₉ і R₂₀ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₆-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₁₄ і R₁₅ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом, або R₁₄ і R₁₅ разом з атомом, до якого вони приєднані, можуть утворювати 5-7-членне кільце, що необов'язково містить інший гетероатом, вибраний з O, NR₂₂ або S;

R₁₇ і R₁₈ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₄-алкілом, або R₁₇ і R₁₈ разом з атомом, до якого вони приєднані, можуть утворювати 5-7-членне кільце, що необов'язково містить інший гетероатом, вибраний з O, NR₂₁ або SO_x;

R₂₁ і R₂₂ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений; і

m, p і x кожний незалежно дорівнює 0 або цілому числу 1 або 2; або

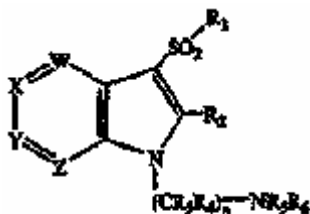
її стереоізомеру або її фармацевтично прийнятної солі.

Даний винахід також представляє способи і композиції, що застосовуються для терапевтичного лікування розладів центральної нервової системи, пов'язаних з або що знаходяться під впливом рецептора 5-ГТ6.

Рецептор 5-гідрокситриптамін-6 (5-ГТ6) є одним з рецепторів, недавно ідентифікованих молекулярним клонуванням. Його здатність зв'язувати широкий спектр терапевтичних сполук, що застосовуються в психіатрії, в поєднанні з його цікавим розподілом в мозку, обумовлює значний інтерес до нових сполук, які здатні взаємодіяти з або впливати на даний рецептор. Були зроблені значні зусилля для того, щоб зрозуміти можливу роль рецептора 5-ГТ6 в психіатрії, дисфункції пізнавальної здатності, моторних функціях і контролі, пам'яті, настрої і подібних. До теперішнього часу сполуки, які демонструють афінність зв'язування з рецептором 5-ГТ6, вважаються корисними як допоміжний засіб для вивчення рецептора 5-ГТ6, так і як потенційні терапевтичні агенти при лікуванні розладів центральної нервової системи, наприклад, [див. C. Reavill and D.C. Rogers, Current Opinion in Investigational Drugs; 2001, 2(1): 104-109, Pharma Press Ltd.].

Несподівано було виявлено, що похідні 1-(аміноалкіл)-3-сульфонілазаїндоли формули I демонструють афінність до 5-ГТ6. Переважно такі похідні азаїндоли можуть застосовуватися як ефективні терапевтичні агенти для лікування розладів центральної нервової системи (ЦНС), пов'язані з або що знаходяться під впливом рецептора 5-ГТ6.

Отже, даний винахід відноситься до похідних 1-(аміноалкіл)-3-сульфонілазаїндоли формули I



Q

де

W є N або CR₇;

X є N або CR₈;

Y є N або CR₉;

Z є N або CR₁₀ за умови, що, принаймні, один, і не більш двох з W, X, Y і Z повинні бути N;

n є цілим числом 2, 3, 4 або 5;

R₁ є необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом, C₃-C₇-циклоалкілом, арилом або гетероарилом, або необов'язково заміщеним 8-13-членною біциклічною або трициклічною системою кілець, що має атом N в основі місточкового зв'язку і необов'язково містить 1, 2 або 3 додаткових гетероатомів, вибраних з N, O або S;

R₂ є H, галогеном або C₁-C₆-алкілом, C₁-C₆-алкокси, C₃-C₇-циклоалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₃ і R₄ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом;

R₅ і R₆ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений, або R₅ і R₆ разом з атомом, до якого вони приєднані, утворюють необов'язково заміщене 5-8-членне кільце, що необов'язково містить додатковий гетероатом, вибраний з O, NR₁₁ або SO_m;

R₇, R₈, R₉ і R₁₀ незалежно є H, галогеном, CN, OCO₂R₁₂, CO₂R₁₃, CONR₁₄R₁₅, SO_pR₁₆, NR₁₇R₁₈, OR₁₉, COR₂₀ або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₆, R₁₉ і R₂₀ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₂-C₆-алкінілом, C₃-C₆-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений;

R₁₄ і R₁₅ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₆-алкілом, або R₁₄ і R₁₅ разом з атомом, до якого вони приєднані, можуть утворювати 5-7-членне кільце, що необов'язково містить інший гетероатом, вибраний з O, NR₂₂ або S;

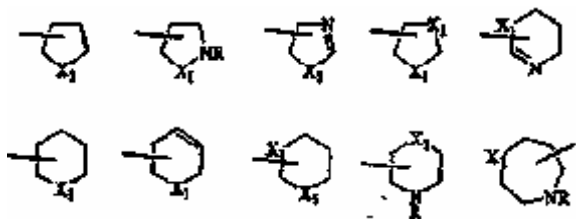
R₁₇ і R₁₈ кожний незалежно є H або необов'язково заміщеним C₁-C₄-алкілом, або R₁₇ і R₁₈ разом з атомом, до якого вони приєднані, можуть утворювати 5-7-членне кільце, що необов'язково містить інший гетероатом, вибраний з O, NR₂₁ або SO_x;

R₂₁ і R₂₂ кожний незалежно є H або C₁-C₆-алкілом, C₂-C₆-алкенілом, C₃-C₇-циклоалкілом, циклогетероалкілом, арилом або гетероарилом, кожний з яких необов'язково заміщений; і

m, p і x кожний незалежно дорівнює 0 або цілому числу 1 або 2; або

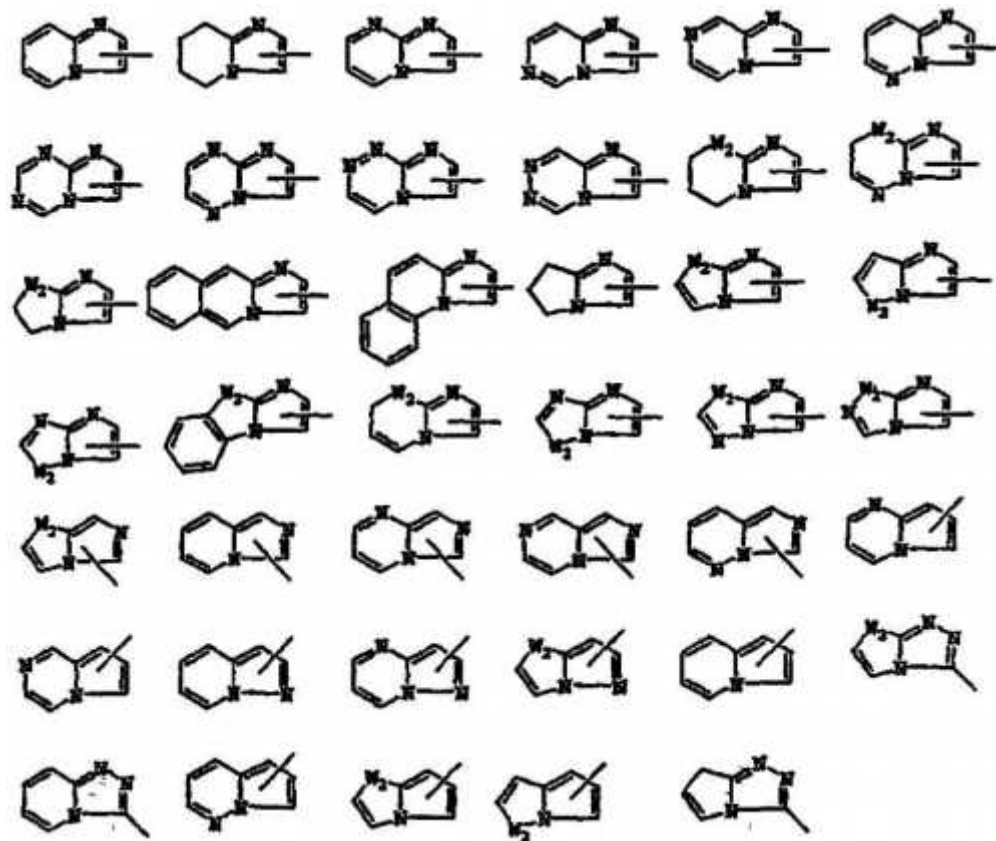
їх стереоізомерів або їх фармацевтично прийнятних солей.

У даному описі і формулі винаходу термін галоген означає F, Cl, Br або I, і термін циклогетероалкіл означає 5-7-членну систему кілець, що містить 1 або 2 гетероатомів, які можуть бути однаковими або різними, вибраних з азоту, кисню і сірки, і необов'язково містить один подвійний зв'язок. Приклади циклогетероалкільної системи кілець, що входить в представлений тут термін, включають такі кільця, в яких X₁ є NR, O або S; і R є H або необов'язковим замісником, таким як описано нижче:



Термін гетероарил, що застосовується в описі і в формулі винаходу, означає 5-10-членну ароматичну систему кілець, що містить 1, 2 або 3 гетероатомів, які можуть бути однаковими або різними, вибраних з N, O або S. Такі гетероарильні системи кілець включають піроліл, азоліл, оксазоліл, тіазоліл, імідазоліл, фурил, тієніл, хінолініл, ізохінолініл, індолініл, бензотієніл, бензофураніл, бензізоксазоліл або подібні. Термін арил означає карбоциклічну ароматичну систему кілець, наприклад таку, що має 6-14 атомів вуглецю, таку як феніл, нафтил, антраценіл і подібні. Термін галогеналкіл в даному описі означає групу C_nH_{2n+1}, що має від одного до 2_{n+1} атомів галогену, які можуть бути однаковими або різними, і термін галогеналкокси в даному описі означає групу OC_nH_{2n+1}, що має від одного до 2_{n+1} атомів галогену, які можуть бути однаковими або різними.

Приклади 8-13-членних біциклічних або трициклічних систем кілець, що мають атом N в основі місточкового зв'язку і необов'язково містять 1, 2 або 3 додаткових гетероатомів, вибраних з N, O або S, охоплені терміном, що застосовується в даному описі, включають представлені нижче кільцеві системи, в яких W₂ є NR, O або S; і R є H або необов'язковим замісником, таким як показано нижче:



В описі і формулі винаходу, де терміни, такі як C_1 - C_6 -алкіл, C_2 - C_6 -алкеніл, C_2 - C_3 -алкініл, C_3 - C_6 -циклоалкіл, циклогетероалкіл, арил або гетероарил, вказані як необов'язково заміщені, групи замісників, які необов'язково присутні, можуть бути в кількості однієї або більше, наприклад, 2 або 3, і являють собою групи, що звичайно застосовуються в фармацевтичних сполуках або модифікаціях таких сполук для того, щоб вплинути на їх структуру/активність, стійкість, абсорбцію, стабільність або інші корисні властивості. Певні приклади таких замісників включають атоми галогену, нітро, ціано, гідроксил, алкіл, галогеналкіл, алкокси, галогеналкокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, форміл, алкоксикарбоніл, карбоксил, алканойл, алкілтіо, алкілсульфініл, алкілсульфоніл, карбамоїл, алкіламід, феніл, фенокси, бензил, бензилокси, гетероцикл (такий як гетероарил або циклогетероалкіл) або циклоалкіл, переважно, атоми галогену або нижчі алкільні групи. Звичайно присутні від 0 до 3 замісників. Якщо будь-який з вказаних вище замісників являє собою або містить алкільний замісник у вигляді групи або частини групи, він може бути лінійним або розгалуженим і може містити аж до 12, переважно аж до 6, більш переважно аж до 4 атомів вуглецю.

Фармацевтично прийнятною сіллю може бути будь-яка кислотно-адитивна сіль, утворена із сполуки формули I і фармацевтично прийнятної кислоти, такої як фосфорна, сірчана, хлористоводнева, бромистоводнева, лимонна, малеїнова, малінова, мигдалева, янтарна, фумарова, оцтова, молочна, азотна, сульфорова, п-толуолсульфонова, метансульфонова кислота або подібні.

Сполуки відповідно до даного винаходу включають складні ефіри, карбамати або інші звичайні форми проліків, які, загалом, є функціональними похідними сполук відповідно до даного винаходу і які легко перетворюються в активну групу даного винаходу *in vivo*. Відповідно, спосіб відповідно до даного винаходу включає лікування різних станів, описаних вище, сполукою формули I або сполукою, яка не описана конкретно, але яка, при введенні, перетворюється в сполуку формули I *in vivo*. Також в об'єм включені метаболіти сполук відповідно до даного винаходу, визначені як активні сполуки, отримані при введенні вказаних сполук в біологічну систему.

Сполуки відповідно до даного винаходу можуть існувати у вигляді одного або більше стереоізомерів. Різні стереоізомери включають енантіомери, діастереомери, атропізомери і геометричні ізомери. Фахівцеві в даній галузі буде зрозуміло, що один стереоізомер може бути більш активним або може володіти сприятливою дією, будучи збагаченим по відношенню до іншого(их) стереоізомеру(ів) або при відділенні від іншого(их) стереоізомеру(ів). Крім того, фахівцеві в даній галузі відомо, як відділяти, збагачувати або селективно отримувати вказані стереоізомери. Отже, даний винахід включає сполуки формули I, їх стереоізомери і їх фармацевтично прийнятні солі. Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути у вигляді суміші стереоізомерів, окремих стереоізомерів або у вигляді оптично активної або енантіомерно чистої форми.

Переважними сполуками відповідно до даного винаходу є сполуки формули I, в яких W або Z є N. Також переважними є сполуки формули I, в яких n дорівнює 2. Інша група переважних сполук формули I включає сполуки, в яких R_1 є необов'язково заміщеним фенілом, нафтилом або імідазотіазолілом.

Більш переважними сполуками відповідно до даного винаходу є сполуки формули I, в яких W є CR_7 ; X є CR_8 ; Y є CR_9 ; і Z є N. Інша група більш переважних сполук включає сполуки формули I, в яких W є N; X є CR_8 ; Y є CR_9 ; і Z є CR_{10} . Більш переважні сполуки формули I також включають сполуки, в яких q дорівнює 2 і R_3 і R_4 є H. Також більш переважними сполуками є ті сполуки формули I, в яких W або Z є N; n дорівнює 2; R_1 є необов'язково заміщеним фенілом, нафтилом або імідазотіазолілом; R_2 , R_3 і R, є H; і R_5 і R_6 кожний

незалежно є Н або С₁-С₃-алкілом.

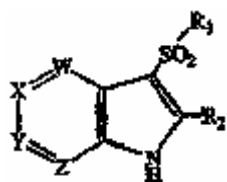
Приклади переважних сполук відповідно до даного винаходу включають:

2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(4-метилфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-(нафт-1-ил)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(6-хлорімідазо[2,1-б][1,3]тіазол-5-іл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(2-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(3-метоксифеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етиламін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-[(3-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-(нафт-1-илсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-[(6-хлорімідазо[1,2-б][1,3]тіазол-5-іл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;

N,N-диметил-N-(2-[3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 3-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 2-[6-хлор-3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламін;
 2-[7-хлор-3-[(2-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]етиламін;
 4-[3-[(3-метоксифеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]бутан-1-амін;
 4-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]бутан-1-амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-(тіан-2-іл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-(нафт-1-ил)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-диметил-N-(2-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-[(3-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-(нафт-1-илсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-[(6-хлорімідазо[1,2-б][1,3]тіазол-5-іл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-[(2-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-метил-N-(2-[3-[(3-метоксифеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]етил)амін;
 N-бензил-N-(2-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етил)амін;
 N,N-добензил-3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-с]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 3-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]пропан-1-амін;
 їх стереоізомери і фармацевтично прийнятні солі.

Даний винахід також представляє способи отримання сполук формули I, таких як визначені вище, або їх стереоізомерів або їх фармацевтично прийнятних солей, де способи включають один з наступних:

а) взаємодію сполуки формули II



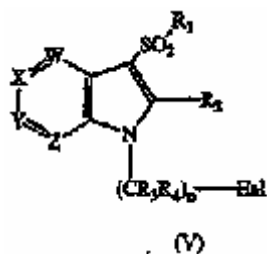
(II)

де W, X, Y, Z, R₁ і R₂ такі, як описані вище, з галогеналкіламіном формули III

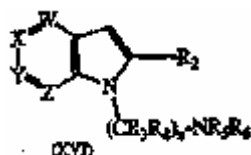


де Hal є Cl, Br або I і R₃, R₄, R₅, R₆ і n такі, як описано вище, в присутності основи з отриманням сполуки формули I; або

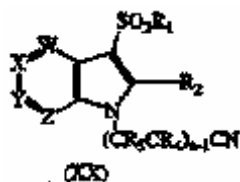
б) взаємодію сполуки формули (V)



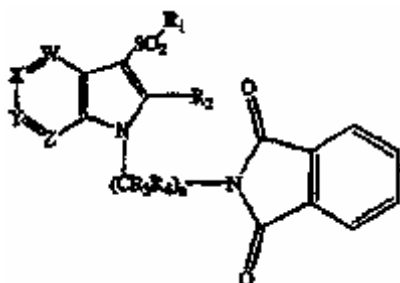
де W, X, Y, Z, R₁, R₃, R₄ і n такі, як описані вище, і Hal є галогеном, із сполукою формули HNR₅R₆,
де R₅ і R₆ такі, як описано вище, з отриманням сполуки формули I;
або
с) сульфонілювання сполуки формули XVI:



де W, X, Y, Z, R₃, R₄, R₅, R₆ і n такі, як описані вище, із сполукою формули: ClSO₂R₁
де R₁ такий, як визначено вище, з отриманням сполуки формули I; або
d) відновлення сполуки формули XX:



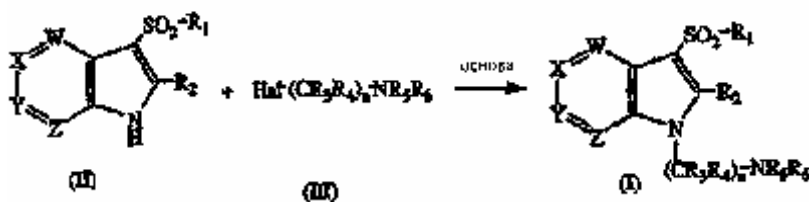
де W, X, Y, Z, R₁, R₃, R₄ і n такі, як описані вище, з отриманням відповідної сполуки формули I, в якій R₅ і R₆, обидва є воднем; або
е) взаємодію сполуки формули



де W, X, Y, Z, R₁, R₂, R₃, R₄, n і m є такими, як описані вище, з гідразином з отриманням відповідної сполуки формули I, в якій R₅ і R₆, обидва є воднем;
або
f) перетворення основної сполуки формули I в фармацевтично прийнятну сіль або навпаки.

Сполуки відповідно до даного винаходу звичайно отримують способами, ілюстрованими на представлених нижче схемах, в яких Hal є Cl, Br або I.

Схема I



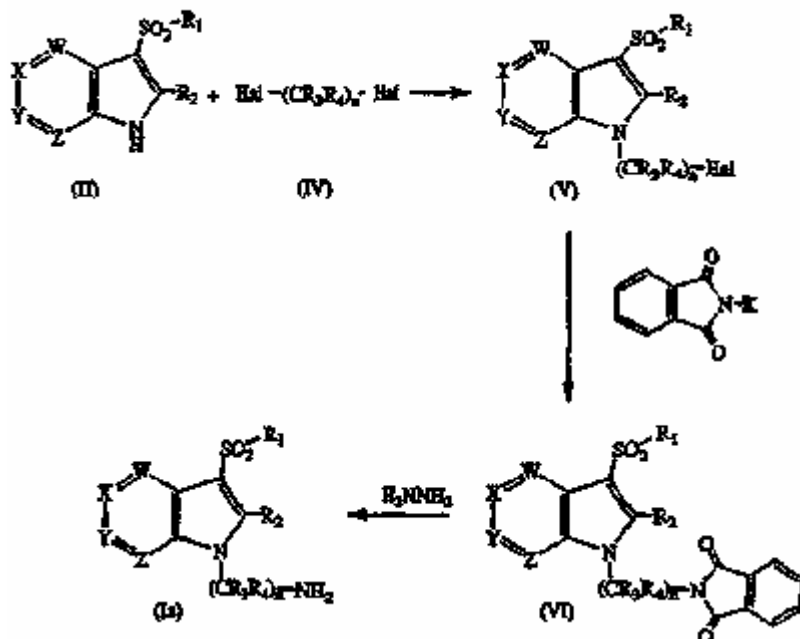
Основи, придатні для застосування в способі відповідно до даного винаходу, включають сильні основи, такі як NaNH, KOt-Bu, NaOH або будь-які прийнятні основи, здатні видаляти протон від основного атома азоту азаіндолу.

Розчинники, придатні для застосування в способі відповідно до даного винаходу, включають полярні розчинники, такі як диметилформамід, диметилсульфоксид, ацетонітрil, тетрагідрофуран або подібні. Якщо застосовують два незмішувані розчинники, може бути присутнім міжфазний каталізатор. Переважно,

для отримання сполук формули I, в яких R_5 і R_6 є H, сполука формули II може бути піддана взаємодії з основою, як описано вище, в присутності міжфазного каталізатора, такого як гідросульфат тетрабутиламонію, з отриманням бажаної сполуки формули I, в якій R_5 і R_6 є H.

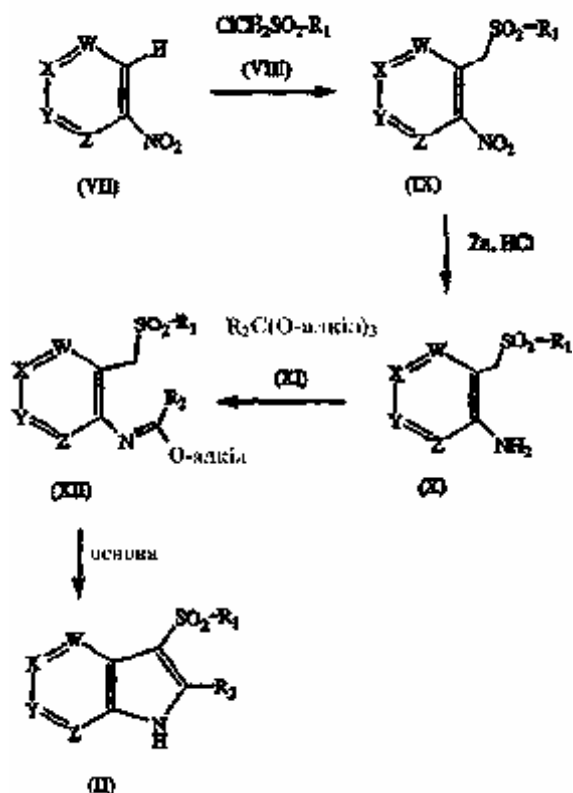
Альтернативно, сполуки формули I, в яких R_5 і R_6 є H (Ia), можуть бути отримані взаємодією сполуки формули II із сполукою дигалогеналкілу формули IV з отриманням 1-(галогеналкіл)азаїндоли формули V; взаємодією азаїндоли формули V з фталімідом калію з отриманням проміжної сполуки формули VI, і взаємодією вказаної проміжної сполуки з гідразиним з отриманням бажаної сполуки формули Ia. Послідовність реакції показана на схемі II, де Hal є Cl, Br або I.

Схема II



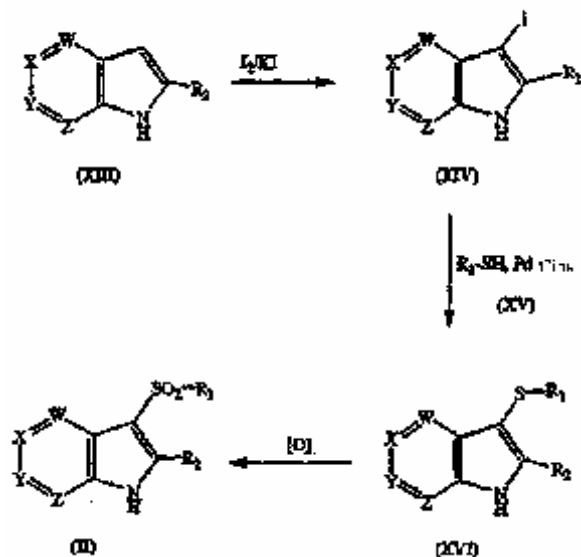
Сполуки формули V також можуть бути піддані безпосередньо взаємодії з аміном, HNR_5R_6 , з отриманням сполуки формули I. Сполуки формули II можуть бути отримані із застосуванням звичайних методів синтезу і, якщо необхідно, стандартного розділення і виділення. Наприклад, сполука нітропіридину формули VII може бути піддана взаємодії із сполукою хлорметилсульфонілу формули VIII в присутності сильної основи з отриманням проміжної сполуки формули IX; вказана проміжна сполука формули IX потім може бути оброблена відновлювальним агентом, таким як Fe, Zn або Sn в присутності кислоти з отриманням аміну формули X; потім вказаний амін може бути ацильований відповідним складним ортоєфіром формули XI з отриманням сполуки формули XII; і вказана сполука може бути циклізована в присутності основи з отриманням бажаного 3-сульфонілазаїндоли формули II. Загальний метод синтезу описаний у [W. Wojciechowski and M. Makosza, Synthesis, 1986, 651-653]. Послідовність реакції показана на схемі III.

Схема III



Сполуки формули II також можуть бути отримані безпосередньо із сполуки азаїндолу, наприклад, азаїндол формули XIII може бути підданий взаємодії з йодом, необов'язково в присутності KI, з отриманням відповідного 3-йодазаїндолу формули XIV, і вказаний 3-йодазаїндол може бути поєднаний з відповідним тіолом формули XV з отриманням 3-тіоазаїндолу формули XVI. Вказана сполука формули XVI потім може бути окислена із застосуванням звичайних окислювальних реагентів, таких як H_2O_2 , м-хлорпербензойна кислота або подібні з отриманням проміжної сполуки формули II. Реакція показана на схемі IV.

Схема IV

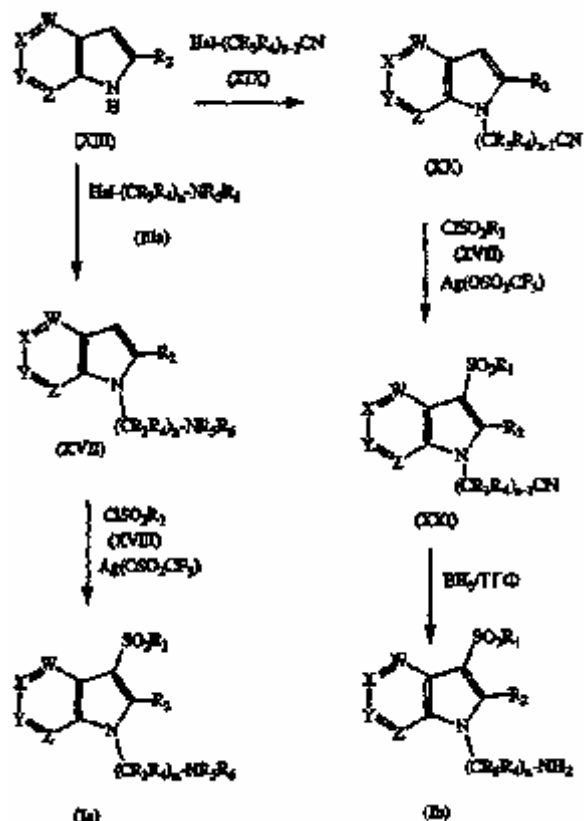


Альтернативно, проміжна сполука 3-тіоазаїндолу формули XVI може бути отримана в одну стадію з азаїндолу формули XIII взаємодією вказаної сполуки формули XIII з тіолом формули XV в присутності йоду, переважно в полярному розчиннику, такому як водний спирт. Отримані таким чином сполуки формули II потім можуть бути перетворені в бажані сполуки формули I алкілюванням атома азоту основного азаїндолу, як показано на схемах I і II вище.

Сполуки формули XIII також можуть бути перетворені в бажані сполуки формули I, в яких R_5 і R_6 відмінні від H (Ia), взаємодією азаїндолу формули XIII з аміном формули IIIa, в якому R_5 і R_6 відмінні від H, з отриманням N-алкілованої сполуки формули XVII; взаємодією сполуки формули XVII з сульфонілхлоридом формули XVIII, необов'язково в присутності реагенту, такого як $\text{Ag}(\text{OSO}_2\text{CF}_3)$ або $\text{Bi}(\text{OSO}_2\text{CF}_3)_3$, з отриманням бажаної сполуки формули Ia. Також сполуки I, в яких R_5 і R_6 є H (Ib), можуть бути отримані безпосередньо з проміжної сполуки формули XIII взаємодією вказаної проміжної сполуки формули XIII з

нітрилом формули XIX з отриманням відповідної алкілової сполуки формули XX; сульфуванням вказаної сполуки формули XX з отриманням сполуки формули XXI; і відновленням сполуки формули XXI із застосуванням звичайних відновлювальних агентів, таких як боран, в тетрагідрофурани (ТГФ) з отриманням бажаних сполук формули Ib. Реакції показані на схемі V, де Hal є Cl, Br або I.

Схема V



Переважно, сполуки формули I відповідно до даного винаходу застосовують для лікування розладів ЦНС, пов'язаних або що знаходяться під впливом рецептора 5-ГТ6, включаючи розлади моторики, настрою, особистості, поведінки, психіатричні, когнітивні, нейродегенеративні або подібні, наприклад, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, розлад дефіциту уваги, тривогу, епілепсію, депресію, obsесивно-компульсивний розлад, порушення сну, нейродегенеративні розлади (такі як травма або удар), розлади харчування (такі як анорексія або булімія), шизофренію, втрату пам'яті, розлади, пов'язані з відміною лікарських засобів або нікотинної залежності, або подібних, або деяких шлунково-кишкових розладів, таких як синдром подразненого кишечника. Отже, даний винахід представляє спосіб лікування розладу центральної нервової системи, пов'язаного або такого, що знаходиться під впливом рецептора 5-ГТ6 у пацієнта, потребуючого такого лікування, який включає введення вказаному пацієнту терапевтично ефективної кількості сполуки формули I, такої як описано вище. Сполуки можуть вводитися пероральним або парентеральним шляхом або будь-яким звичайним шляхом, який забезпечує ефективне введення терапевтичного агента пацієнту, потребуючому цього.

Термін «введення» в даному контексті, в значенні введення сполуки або речовини відповідно до даного винаходу, означає або введення безпосередньо такої сполуки або речовини, або введення проліків, похідного або аналога, який дає еквівалентну кількість сполуки або речовини в організмі.

Терапевтично ефективна кількість, що застосовується для лікування певного розладу ЦНС, може варіюватися в залежності від певних умов стану, що лікується, розміру, віку і реакції пацієнта, тяжкості розладу, свідчення лікуючого терапевта і подібних. Загалом, ефективні кількості для щоденного перорального введення складають від близько 0,01 до 1000мг/кг, переважно від близько 0,5 до 500мг/кг, і ефективна кількість для парентерального введення складає від близько 0,1 до 100мг/кг, переважно від 0,5 до 50мг/кг.

На практиці, сполуки відповідно до даного винаходу дають шляхом введення сполуки або її попередника в твердій або рідкій формі, або в чистому вигляді, або в комбінації з одним або більше звичайними фармацевтичними носіями або наповнювачами. Отже, даний винахід представляє фармацевтичну композицію, яка містить фармацевтично прийнятний носій і ефективну кількість сполуки формули I, такої як описано вище.

Тверді носії, придатні для застосування в композиціях відповідно до даного винаходу, включають одну або більше речовин, які також можуть діяти як смакові агенти, лубриканти, солубілізатори, суспендуючі агенти, наповнювачі, гліданти, допоміжні для пресування агенти, зв'язуючі агенти, агенти для дезінтеграції таблеток або інкапсулюючі матеріали. У порошках носій може являти собою тонкоподрібнену тверду речовину в суміші з тонкоподрібненою сполукою формули I. В таблетках сполука формули I може бути змішана з носієм, що має необхідні властивості для пресування, у відповідних пропорціях і мати бажану форму і розмір. Вказані порошки і таблетки можуть містити аж до 99мас.% сполуки формули I. Тверді носії, придатні для застосування в композиціях відповідно до даного винаходу, включають фосфат кальцію,

стеарат магнію, тальк, цукор, лактозу, декстрин, крохмаль, желатин, целюлозу, метилцелюлозу, натрійкарбоксиметилцелюлозу, полівінілпіролідон, віск з низькою температурою плавлення і іонообмінні смоли.

У композиціях відповідно до даного винаходу можуть застосовуватися будь-які фармацевтично прийнятні рідкі носії, придатні для отримання розчинів, суспензій, емульсій, сиропів і еліксирів. Сполуки формули I можуть бути розчинені або суспендовані в фармацевтично прийнятному рідкому носії, такому як вода, органічний розчинник або фармацевтично прийнятна олія або жир, або їх суміші. Вказані рідкі композиції можуть містити інші фармацевтично прийнятні домішки, такі як солубілізатори, емульгатори, буфери, консерванти, підсолоджувачі, смакові агенти, суспендуючі агенти, загусники, барвники, регулятори в'язкості, стабілізатори, осмотичні регулятори або подібні. Приклади рідких носіїв, придатних для перорального і парентерального введення, включають воду (таку, що особливо містить домішки, такі як вказані вище, наприклад, похідні целюлози, переважно, розчин натрійкарбоксиметилцелюлози), спирти (включаючи одноатомні спирти і багатоатомні спирти, наприклад, гліколі) або їх похідні, або олії (наприклад, фракціоновану кокосову олію і арахісову олію). Для парентерального введення носій також може бути складним ефіром жирних кислот, таким як етилолеат або ізопропілміристат.

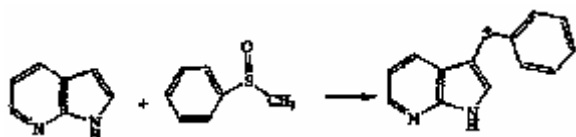
Композиції відповідно до даного винаходу, які являють собою стерильні розчини або суспензії, застосовують для внутрішньом'язового, внутрішньочеревинного або підшкірного ведення. Стерильні розчини також можуть вводитися внутрішньовенно. Композиції відповідно до даного винаходу, придатні для перорального застосування, можуть бути як в рідкій, так і в твердій формі.

Для більш ясного розуміння і для ілюстрації даного винаходу нижче представлені конкретні приклади. Представлені нижче приклади є тільки ілюстративними і не повинні розумітися як такі, що обмежують об'єм і основоположні принципи даного винаходу жодним чином.

Термін Н-ЯМР означає протонний ядерний магнітний резонанс. Терміни CH_2Cl_2 і ДМФ означають метилхлорид і диметилформамід, відповідно. Хроматографію проводять із застосуванням SiO_2 як підкладки.

Приклад 1

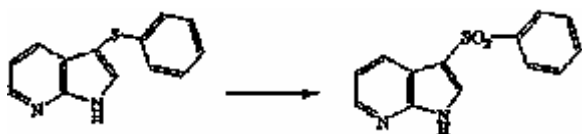
Отримання 3-(фенілтіо)-1Н-піроло[2,3-б]піридину



Розчин метилфенілсульфоксиду (8,33г, 59,4ммоль) в CH_2Cl_2 охолоджують до температури -78°C і по краплях обробляють трифтороцтовим ангідридом (4,1мл, 5,3ммоль). Після перемішування протягом 30 хвилин при температурі -78°C додають розчин 7-азаіндолу (5,2г, 44,0ммоль) в CH_2Cl_2 . Через 30 хвилин при температурі -78°C додають триетиламін (74мл, 534ммоль), і реакційну суміш нагрівають до температури навколишнього середовища. Після перемішування протягом 3,5 днів реакційну суміш концентрують у вакуумі, обробляють насиченим водним NaHCO_3 і екстрагують CH_2Cl_2 . Органічні екстракти об'єднують і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок кристалізують з метанолу/ H_2O і перекристалізують з CH_2Cl_2 /гексану з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білуватої твердої речовини, 1,26г, т.пл. $188-189^\circ\text{C}$, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 2

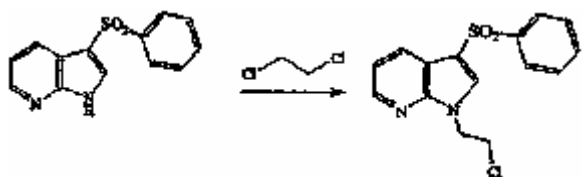
Отримання 3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридину



Розчин 3-(фенілтіо)-1Н-піроло[2,3-б]піридину (100мг, 0,44ммоль) в трет-бутиловому спирті обробляють $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4мг, 0,020ммоль) і охолоджують до температури 0°C . Суміш 30% водного перекису водню (500мг, 4,41ммоль) і 0,2н. водного NaHCO_3 (7,5мл) додають по краплях. Реакційну суміш перемішують протягом 23 годин при температурі 20°C , розбавляють насиченим водним NaHCO_3 і екстрагують етилацетатом. Об'єднані екстракти сушать над MgSO_4 і концентрують у вакуумі. Хроматографія (1:50 метанол/ CH_2Cl_2) отриманого залишку, дає твердий продукт, який перекристалізують з CH_2Cl_2 /гексану з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рожево-білої твердої речовини, 50мг, т.пл. $>250^\circ\text{C}$, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 3

Отримання 1-(2-хлоретил)-3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридину

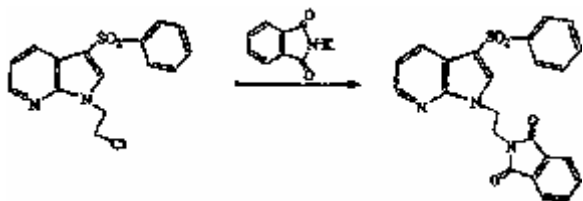


Розчин 3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридину (4,30г, 16,6ммоль) в 1,2-дихлоретані (33мл, 420ммоль) обробляють Aliquat® (хлорид трикаприлметиламонію, виробляється в Aldrich, Milwaukee, WI) (6,9г) і 50% водним NaOH (1,6г, 20ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом 6 годин при температурі

45°C. Охолоджений розчин розбавляють H₂O (200мл) і екстрагують CH₂Cl₂ (3×250мл). Об'єднані екстракти CH₂Cl₂ сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі до коричневої смоли. Цю смолу піддають хроматографії (1:4 етилацетат/гексан) і потім кристалізують з етилацетату/гексану з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини, 3,84г, т.пл. 117-119°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 4

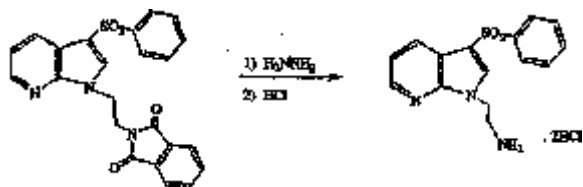
Отримання 2-{2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил}-1Н-ізоіндол-1,3(2Н)-діону



Розчин 1-(2-хлоретил)-3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридину (3,84г, 12,0ммоль) в ДМФ обробляють фталатом калію (2,78г, 15,0ммоль), нагрівають при температурі 115°C протягом 16 годин, охолоджують до кімнатної температури, розбавляють водою і екстрагують етилацетатом. Об'єднані екстракти промивають насиченим розчином солі, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок кристалізують з CH₂Cl₂/гексану з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини, 4,54г, охарактеризованої аналізом Н-ЯМР.

Приклад 5

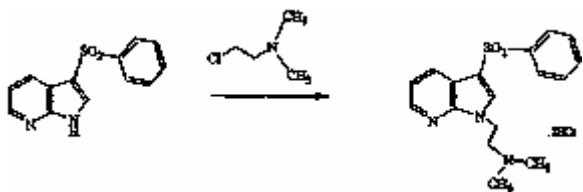
Отримання дигідрохлориду 2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламіну



Розчин 2-{2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил}-1Н-ізоіндол-1,3(2Н)-діону (4,54г, 10,5ммоль) в діоксані обробляють безводним гідразиним (8,3мл, 265ммоль), нагрівають при температурі 50°C протягом 3 годин, концентрують у вакуумі, розбавляють водою і екстрагують CH₂Cl₂. Об'єднані екстракти сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі з отриманням прозорого смолистого залишку. Хроматографія (1:9 метанол/CH₂Cl₂) залишку дає вільний амін вказаної в заголовку сполуки у вигляді прозорої смоли. Вільний амін розчиняють в етанолі, підкисляють 2н. водною HCl і концентрують у вакуумі. Кристалізація отриманого залишку з етанолу/простого ефіру дає вказану в заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини, 3,20г, т.пл. 195-197°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 6

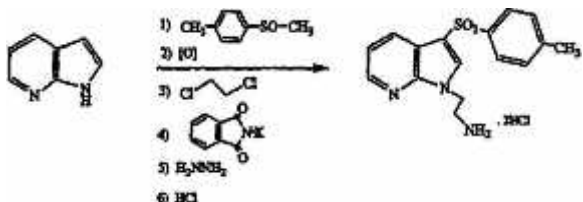
Отримання гідрохлориду N,N-диметил-N-{2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етил}аміну



Розчин 3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридину (400мг, 1,55ммоль) в сухому ДМФ охолоджують до температури 0°C, обробляють гідридом натрію (60% в олії, 97мг, 2,43ммоль), перемішують протягом 3 годин при температурі 20°C, охолоджують до температури -20°C, обробляють гідрохлоридом 2-(диметиламіно)етилхлориду (336мг, 2,33ммоль), перемішують при температурі 60°C протягом 16 годин, охолоджують до кімнатної температури, гасять водою і екстрагують етилацетатом. Органічні екстракти об'єднують, промивають насиченим розчином солі, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі з отриманням вільного аміну вказаної в заголовку сполуки у вигляді жовтуватої смоли. Смолу розчиняють в етанолі, обробляють 1н. водною HCl і концентрують у вакуумі. Кристалізація отриманого залишку з етанолу/простого ефіру дає вказану в заголовку сполуку у вигляді світлої рудувато-коричневої твердої речовини, 111мг, т.пл. 214-217°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 7

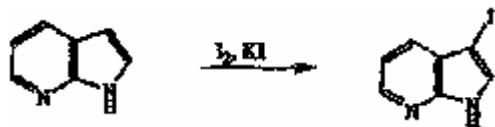
Отримання дигідрохлориду 2-[3-[(4-метилфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламіну



По методиці прикладів 1-6, і застосовуючи 7-азаіндол і метил п-толілсульфоксид як вихідні матеріали, отримують вказану в заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 215-217°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 8

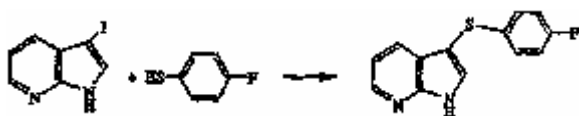
Отримання 3-йод-1Н-піроло[2,3-б]піридину



Розчин 7-азаіндолу (20,0г, 169ммоль) в етанолі обробляють йодом (57,9г, 228ммоль), йодидом калію (37,8г, 228ммоль) і 1н. водним NaOH (204мл, 204ммоль). Після перемішування протягом 4 годин при температурі 20°C реакційну суміш розбавляють водою і екстрагують етилацетатом. Органічні екстракти об'єднують і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок кристалізують з метанолу/води з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рожево-білої твердої речовини, 35,4г, т.пл. 201-204°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 9

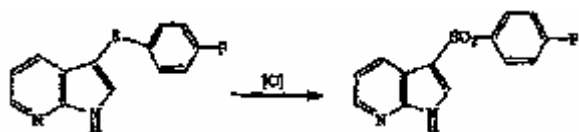
Отримання 3-[(4-фторфеніл)тіо]-1Н-піроло[2,3-б]піридину



Розчин 3-йод-1Н-піроло[2,3-б]піридину (4,0г, 16,4ммоль) в ДМФ обробляють 4-фторбензолтіолом (2,09мл, 19,7ммоль), карбонатом калію (3,40г, 24,6ммоль) і йодидом міді (4,21г, 22,1ммоль). Реакційну суміш нагрівають при температурі 65°C протягом 4 годин, охолоджують, розбавляють конц. водним NH₄OH і екстрагують етилацетатом. Екстракти об'єднують, промивають насиченим розчином солі, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Хроматографія (1:50 метанол/CH₂Cl₂) залишку з подальшою кристалізацією з метанолу/H₂O дає вказану в заголовку сполуку у вигляді білуватої твердої речовини, 3,56г, т.пл. 183-184°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 10

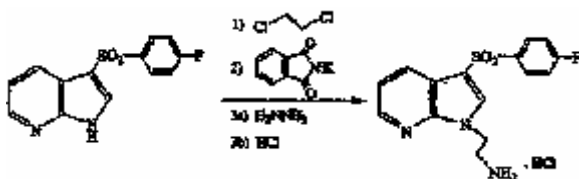
Отримання 3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридину



Розчин 3-[(4-фторфеніл)тіо]-1Н-піроло[2,3-б]піридину (3,36г, 13,8ммоль) в ацетоні обробляють розчином NaHCO₃ (2,90г, 35,4ммоль) у воді. Реакційну суміш обробляють Oxone® (2KHSO₅·xKHSO₄·xK₂SO₄, виробництва DuPont, Wilmington, DE.) (25,5г, 41,4ммоль), перемішують протягом 3 годин при температурі 20°C, розбавляють водою, охолоджують на бані лід-вода і фільтрують. Фільтрувальний коржик промивають водою і сушать у вакуумі з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини, 1,73г, т.пл. 212-213°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 11

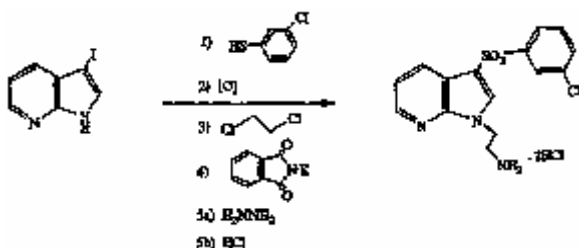
Отримання гідрохлориду 2-[3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етиламіну



По методиці прикладів 3-5, застосовуючи 3-[(4-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин як субстрат, отримують вказану в заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 193-197°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 12

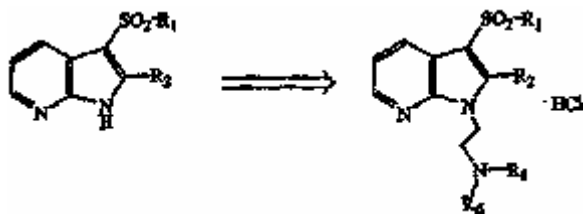
Отримання дигідрохлориду 2-[3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламіну



По вказаних вище методиках і із застосуванням 3-йод-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин і 3-хлорбензолтіолу як вихідних матеріалів отримують вказану в заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 203-206°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

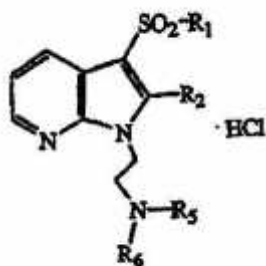
Приклади 13-30

Отримання гідрохлориду N,N-диметил-N-(2-{3-[(заміщений феніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1-іл}етил)аміну



По методиках, вказаних в прикладах 4, 5 або 6, або застосовуючи метод, описаний в [J. Alvarez-Builla, et al., Synthetic Communications, (1991) 21(4) 535-544], і застосовуючи відповідний 3-(заміщений сульфоніл)-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин і бажаний галогеналкіламін, отримують продукти, показані в таблиці I і ідентифікують їх мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Таблиця I

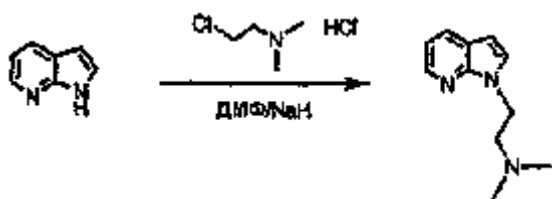


Приклад №	R1	R2	R5	R6	т.пл., °C
13	4-F-C ₆ H ₄	H	CH ₃	CH ₃	189-192 ^a
14	3-Cl-C ₆ H ₄	H	CH ₃	CH ₃	182-186 ^a
15	1-нафтил	H	CH ₃	CH ₃	203-206
16	1-нафтил	H	H	H	148-170
17	3-F-C ₆ H ₄	H	H	H	202-204
18	C ₆ H ₅	CH ₃	H	H	>250 ^a
19	3-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	CH ₃	CH ₃	108-112
20	2-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	CH ₃	CH ₃	196-198
21	2-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	H	H	182-185 ^a
22	3-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	H	H	179-183
23	2-тієніл	H	H	H	202-204 ^a
24	3,5-диCl-C ₆ H ₃	H	H	H	136-140
25	2-тієніл	H	CH ₃	CH ₃	212-216 ^a
26	3,5-диCl-C ₆ H ₃	H	CH ₃	CH ₃	227-232 ^a
27	3-Cl-C ₆ H ₄	H	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		183-185 ^a
28	3-F-C ₆ H ₄	H	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		198-200 ^a
29	3-F-C ₆ H ₄	H	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂		197-199 ^a
30	3-F-C ₆ H ₄	H	CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂		127-129

^a дигідрохлорид

Приклад 31

Отримання N,N-диметил-N-[2-(1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл)етил]аміну

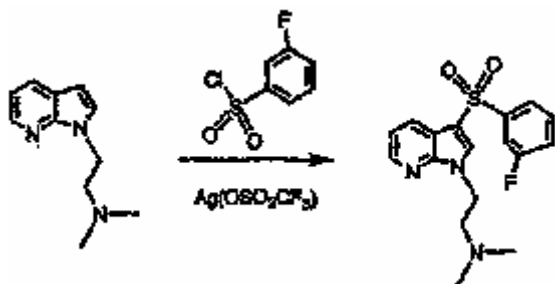


Розчин 1H-піроло[2,3-b]піридину (5,00г, 42,3ммоль), що перемішується, в ДМФ при температурі навколишнього середовища обробляють 95% гідридом натрію в олії (3,78г, 150ммоль). Після закінчення виділення газу реакційну суміш обробляють гідрохлоридом 2-(диметиламіно)етилхлориду (6,40г, 44,4ммоль), перемішують протягом 16 годин і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок розподіляють між ЕтоАс і водою. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі з отриманням

вказаної в заголовку сполуки у вигляді олії, 6,50г (вихід 81%), що ідентифікується мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 32

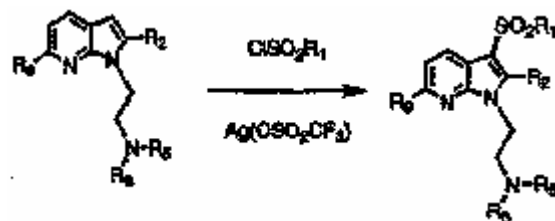
Отримання дигідрохлориду N,N-диметил-N-(2-{3-[(3-фторфеніл)сульфоніл]-1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл}етил)аміну



Розчин N,N-диметил-N-[2-(1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл)етил]аміну (1,66г, 8,8ммоль), що перемішується, в нітробензолі обробляють 3-фторфенілсульфонілхлоридом (1,88г, 9,7ммоль) в атмосфері азоту з подальшою обробкою трифторметилсульфонатом срібла (2,94г, 11,4ммоль), нагрівають до температури 100°C протягом 22 годин, охолоджують і фільтрують через бавовняний фільтр. Фільтрат обробляють водою і насиченим водним NaHCO_3 і екстрагують CH_2Cl_2 . Екстракти об'єднують, сушать над MgSO_4 і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок піддають хроматографії, елюючи 2:98 концентрованим NH_4OH /етанолом, з отриманням вільного аміну вказаної в заголовку сполуки у вигляді в'язкої олії, яка твердіє (1,25г, 41%). Вільний амін розчиняють в теплому етанолі, обробляють 4М HCl в діоксані і фільтрують. Фільтрат сушать з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді біло-жовтої твердої речовини, 1,07г (29% вихід), т.пл. 191-192°C, охарактеризованої масспектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклади 33-56

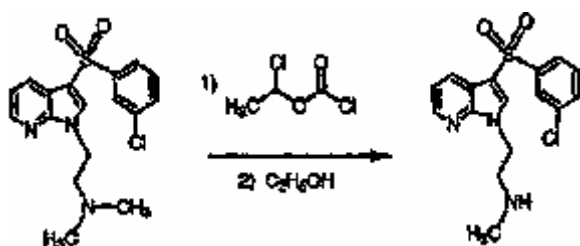
Отримання похідних N-[[2-(3-арилсульфоніл)-1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл]етил]аміну



По методиках, вказаних вище, і застосовуючи відповідний N1-заміщений 1H-піроло[2,3-b]піридин і бажаний арилсульфонілхлорид, отримують продукти, показані в таблиці II, і ідентифікують їх мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.



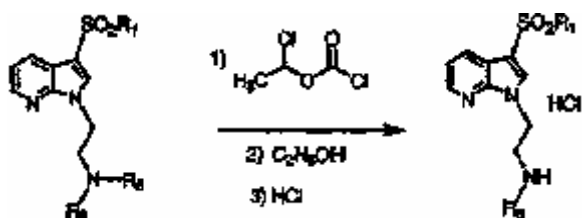
Приклад 57
Отримання гідрохлориду N-(2-{3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1-іл}етил)-N,N-диметиламіну



Розчин N-(2-{3-[(3-хлорфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1-іл}етил)-N,N-диметиламіну (0,540г, 1,49ммоль), що перемішується в атмосфері азоту, в 1,2-дихлоретані обробляють 1-хлоретилхлорформіатом (0,40мл, 3,7ммоль), нагрівають до температури кипіння із зворотним холодильником протягом 2 годин, охолоджують і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок обробляють етанолом, нагрівають при температурі кипіння із зворотним холодильником протягом 2 годин і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок піддають хроматографії із застосуванням 2:98 концентрованого NH₄OH/етанолу як елюенту, з отриманням вільного аміну вказаної в заголовку сполуки у вигляді напівтвердої речовини (311мг, 60%). Вільний амін розчиняють в етанолі, обробляють 4М HCl в діоксані і фільтрують. Фільтрат сушать з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді блідо-жовтої твердої речовини, 274мг (48% вихід), т.пл. 263-265°C (розкл.), охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

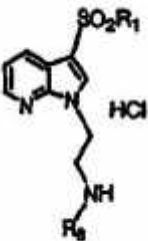
Приклади 58-62

Отримання похідних N-[[2-(3-арилсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-1-іл]етил]аміну



По методиках, вказаних вище, і застосовуючи відповідний N-(N,N-дизаміщений аміноалкіл)-1H-піроло[2,3-b]піридин отримують продукти, показані в таблиці III, і ідентифікують їх мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

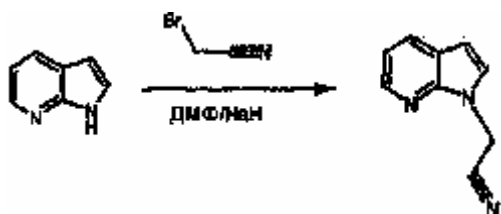
Таблиця III



Приклад №	R1	R6	т.пл., °C
58	6-Cl-імідазо[2,1-b][1,3]тіазол-5-іл	CH ₃	182-186 (піни)
59	3-F-C ₆ H ₄	CH ₃	225-260
60	3-Cl-C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	231-233
61	6-Cl-імідазо[2,1-b][1,3]тіазол-5-іл	CH ₂ C ₆ H ₅	173-175
62	3-CH ₃ -C ₆ H ₄	CH ₃	244-246

Приклад 63

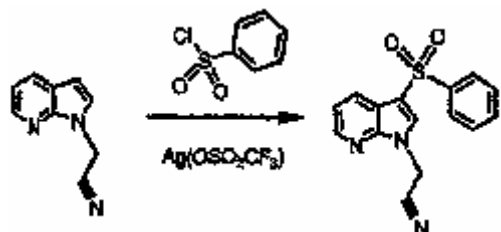
Отримання 1-(1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл)ацетонітрилу



Розчин 1H-піроло [2,3-b] піридин (5,06г, 42,8ммоль), що перемішується, в ДМФ при температурі навколишнього середовища порціями обробляють 95% гідридом натрію (1,10г, 43,5ммоль). Після завершення виділення газу реакційну суміш обробляють бромацетонітрилом (3,00мл, 43,1ммоль), перемішують протягом 16 годин і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок розподіляють між EtOAc і водою. Органічну фазу відділяють, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Залишок піддають хроматографії, елюючи 1:3 EtOAc/гексаном з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді воскової твердої речовини, т.пл. 77-79°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 64

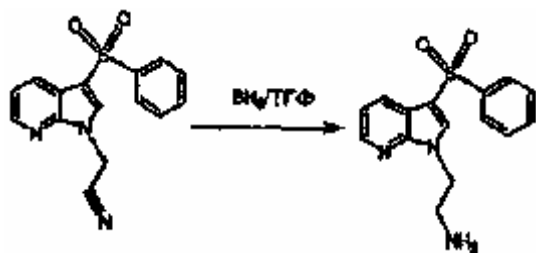
Отримання 1-[3-(фенілсульфоніл)-1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл]ацетонітрилу



Розчин 1-(1H-піроло[2,3-b]піридин-1-іл)ацетонітрилу (0,68г, 4,33ммоль), що перемішується, в нітробензолі обробляють бензолсульфонілхлоридом (0,57мл, 4,4ммоль) і трифторметансульфонатом срібла (1,50г, 5,8ммоль), нагрівають при температурі 125°C протягом 16 годин, охолоджують і розділяють між насиченим водним NaHCO₃ і CH₂Cl₂. Органічну фазу сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок піддають хроматографії, елюючи спочатку 1:4 EtOAc/гексаном, потім 1:2 EtOAc/гексаном з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рудувато-коричневої твердої речовини, 0,70г (54% вихід), т.пл. 140-142°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 65

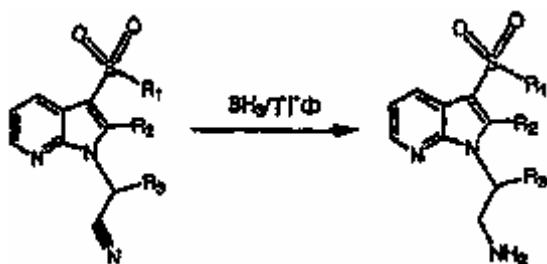
Отримання 2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]етиламіну



Частину 1-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл] ацетонітрилу (0,30г, 1,00ммоль) обробляють 1,0М бораном в тетрагідрофурані (ТГФ) (4,0мл, 4,0ммоль) порціями по 0,5мл при температурі навколишнього середовища, перемішують протягом 16 годин, обробляють 2,0М НСІ (15мл), нагрівають при температурі 100°С протягом 2 годин, охолоджують на крижаній бані, обробляють 2,5М водним NaOH і екстрагують простим ефіром. Екстракти об'єднують, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді олії, 0,180г (60% вихід), охарактеризованої мас-спектральним, аналізом і аналізом Н-ЯМР.

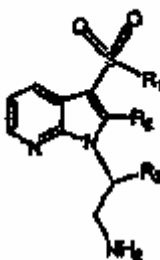
Приклади 66-68

Отримання похідних [3-(арилсульфоніл)-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-іл]алкіл аміну



По методиках, описаних в прикладах 64 і 65, і застосовуючи відповідний 3-арилсульфоніл-1Н-піроло[2,3-б]піридин-1-ацетонітрил, отримують сполуки, показані в таблиці IV, і ідентифікують їх мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

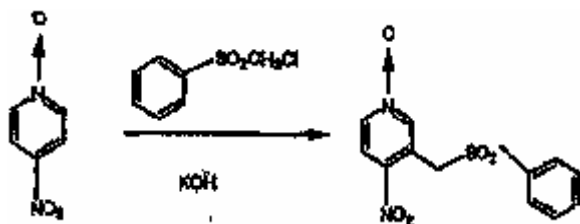
Таблиця IV

				
Приклад №	R1	R2	R3	т. пл., °С
66	3-F-C ₆ H ₄	CH ₃	H	239-241 ^a
67	2-нафтил	H	H	233-238 ^a
68	C ₆ H ₅	H	CH ₃	180-185 ^a

^a гідрохлорид

Приклад 69

Отримання 4-нітро-3-[(фенілсульфоніл)метил]піридин-N-оксиду

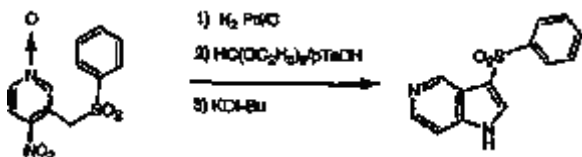


Із застосуванням адаптованої методики [Makosza, et al., Liebigs Ann. Chem., 1984, 8-14], суміш 4-нітропіридин-N-оксиду (1,40г, 10,0ммоль), що перемішується, і хлорметилфенілсульфону (1,92г, 10,0ммоль) в ДМСО (25мл) на холодній водяній бані обробляють розчином KOH (4,0г, 71ммоль) в ДМСО, перемішують протягом 45 хвилин, виливають в 1,0М хлористоводневу кислоту і воду і екстрагують CH₂Cl₂. Водну фазу фільтрують і фільтрувальний коржик сушать у вакуумі з отриманням вказаної в заголовку сполуки, 1,20г (вихід 41%). Органічні екстракти об'єднують, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриману вологу

тверду речовину нагрівають в киплячому етанолі/воді (4:1) і фільтрують. Фільтрат охолоджують, концентрують і фільтрують. Отриманий фільтрувальний коржик сушать у вакуумі з отриманням додаткової порції вказаної в заголовку сполуки, 0,967г (загальний вихід 74%), т.пл. 219-220°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 70

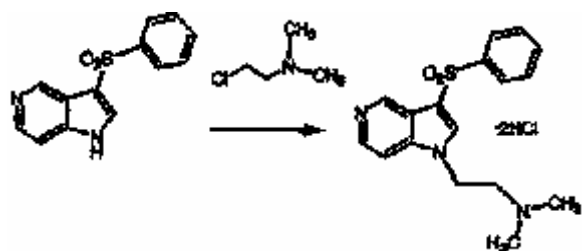
Отримання 3-фенілсульфоніл-1Н-піроло[3,2-с]піридину



Суміш 4-нітро-3-[(фенілсульфоніл)метил]піридин-Н-оксиду (1,43г, 4,90ммоль) в метанолі нагрівають з форміатом амонію (1,54г, 24,5ммоль) і 10% паладієм на вугіллі (0,50г) при температурі 50°C протягом 24 годин, обробляють додатковою кількістю форміату амонію (0,63г, 10ммоль), нагрівають при температурі кипіння із зворотним холодильником протягом 30 годин, охолоджують і фільтрують. Фільтрат концентрують у вакуумі. Отриманий залишок суспендують в етанолі/воді і фільтрують для видалення залишкового каталізатора. Фільтрат концентрують, охолоджують і фільтрують. Фільтрувальний коржик сушать з отриманням рудувато-коричневої твердої речовини (0,60г). Цю тверду речовину (0,55г) змішують з триетилортоформіатом (1,84мл, 11,1ммоль), моногідратом пара-толуолсульфоїкислоти (pTsOH) (42мг, 0,22ммоль) і 1,2-дихлоретаном, нагрівають при температурі, кипіння із зворотним холодильником протягом 7 годин і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок диспергують в тетрагідрофурані, обробляють 1,0М KO-t-Bu в тетрагідрофурані (3,1мл, 3,1ммоль), перемішують протягом 2 годин, обробляють насиченим водним NH₄Cl і водою і екстрагують CH₂Cl₂. Екстракти об'єднують, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриману оранжеву тверду речовину піддають хроматографії, елюючи спочатку EtOAc, потім 10:90 етанолом/EtOAc з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білуватої твердої речовини, 330мг (58% вихід), т.пл. 261-263°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 71

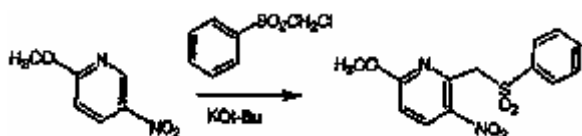
Отримання дигідрохлориду N,N-диметил-N-{2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-с]піридин-1-іл]етил}аміну



По методиці прикладу 6, застосовуючи 3-фенілсульфоніл-1Н-піроло[3,2-с]піридин, температуру навколишнього середовища як температуру реакції і час реакції 24 години, отримують вказану в заголовку сполуку у вигляді білуватої твердої речовини, т.пл. 255-257°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 72

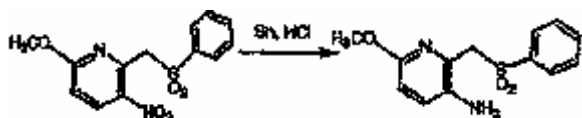
Отримання 6-метокси-3-нітро-2-[(фенілсульфоніл)метил]-піридину



1М KOt-Bu розчин в тетрагідрофурані (50мл, 50ммоль) охолоджують до температури -40°C, порціями обробляють розчином хлорметилфенілсульфону (4,39г, 23,0ммоль) і потім розчином 2-метокси-5-нітропіридину (3,55г, 23,0ммоль) в тетрагідрофурані, перемішують протягом 45 хвилин при температурі -40°C, обробляють крижаною оцтовою кислотою (3,0г, 50ммоль) і фільтрують. Фільтрувальний коржик сушать на повітрі з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рудувато-коричневої твердої речовини, 5,70г (80% вихід), т.пл. 147-149°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 73

Отримання 3-аміно-6-метокси-2-[(фенілсульфоніл)метил]піридину

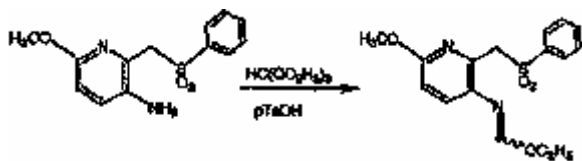


До суміші 6-метокси-3-нітро-2-[(фенілсульфоніл)метил]піридин (6,17г, 20,0ммоль), що перемішується, в метанолі і конц. HCl (50мл) додають тонкі смужки олов'яної фольги (10,0г, 84,2ммоль), нагрівають при

температурі 60°C протягом 20 годин і фільтрують гарячої. Фільтрат виливають на лід і 2,5н. водний NaOH, перемішують протягом 0,5 години і фільтрують. Фільтрувальний коржик сушать на повітрі з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини, вихід 5,26г (94%), охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 74

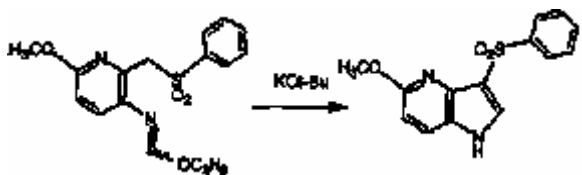
Складний етиловий ефір N-{6-метокси-[2-(фенілсульфоніл)метил]піридин-3-іл}формімідної кислоти



Суміш 3-аміно-6-метокси-2-[(фенілсульфоніл)метил] піридину (2,40г, 8,62ммоль), що перемішується, в триетилортоформіаті (20мл) і моногідраті п-толуолсульфоїкислоти (pTsOH) (0,15г, 0,788ммоль) нагрівають при температурі 155°C протягом 48 годин і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок розбавляють гексаном і фільтрують з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рудувато-коричневої речовини, 2,54г (88% вихід), охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 75

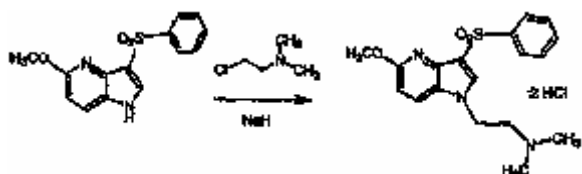
Отримання 5-метокси-3-фенілсульфоніл-1Н-піроло[3,2-б]піридину



Розчин складного етилового ефіру, N-{6-метокси-[2-(фенілсульфоніл)метил]піридин-3-іл}формімідної кислоти (2,54г, 7,60ммоль), що перемішується, в ДМСО обробляють порошкоподібним KOt-Bu (4,59г, 38,0ммоль), перемішують при температурі навколишнього середовища протягом 4 годин, обробляють 10% водним NH₄Cl і екстрагують EtOAc. Екстракти об'єднують, сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок перекристалізують з EtOAc з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді рудувато-коричневої речовини, 0,42г (19% вихід), т.пл. 223-225°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 76

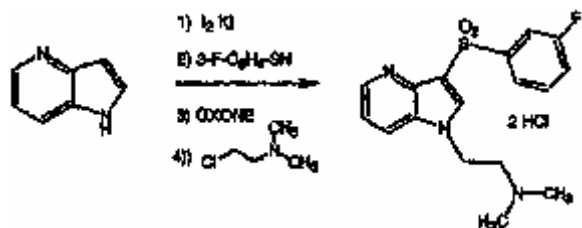
Отримання дигідрохлориду N,N-диметил-N-{2-[3-(фенілсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл]етил}аміну



Розчин 5-метокси-3-фенілсульфоніл-1Н-піроло[3,2-б] піридину (0,288г, 1,00ммоль), що перемішується, в сухому диметилформаміді обробляють 95% NaH (0,075г, 2,97ммоль), перемішують при температурі навколишнього середовища до припинення виділення газу, обробляють гідрохлоридом 2-(диметиламіно)етилхлориду (0,200г, 1,39ммоль), перемішують протягом 16 годин при температурі 80°C, концентрують у вакуумі і розподіляють між водою і EtOAc. Органічну фазу сушать над MgSO₄ і концентрують у вакуумі. Отриманий залишок піддають хроматографії, елюючи EtOAc, потім 1:9 CH₃OH/EtOAc з отриманням напівтвердої речовини (0,216г, 60% вихід вільного аміну). Напівтверду речовину розчиняють в етанолі і обробляють 4н. HCl в діоксані і фільтрують. Фільтрувальний коржик сушать і розтирають з простим ефіром з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини, 0,19г, т.пл. 212-214°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Приклад 77

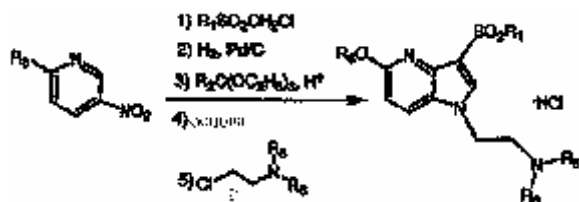
Отримання дигідрохлориду N,N-диметил-N-(2-(3-[(3-фторфеніл)сульфоніл]-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл)етил)аміну



По методиці прикладів 6, 8, 9 і 10, застосовуючи 1Н-піроло[3,2-б]піридин як вихідний матеріал, отримують вказану в заголовку сполуку у вигляді білої твердої речовини, т.пл. 163-165°C, охарактеризованої мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

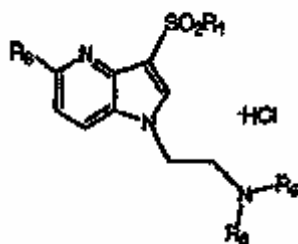
Приклади 78-81

Отримання похідних N-[2-(3-(арилсульфоніл)-1Н-піроло[3,2-б]піридин-1-іл)етил]аміну



По методиці прикладів 72-76, застосовуючи відповідні заміщені нітробензоли як вихідний матеріал і арилсульфонілхлорид і хлоретиламін, отримують сполуки, показані в таблиці V, охарактеризовані мас-спектральним аналізом і аналізом Н-ЯМР.

Таблиця V



Приклад №	R1	R8	R5	R6	t, пл., °C
78	4-Br-C ₆ H ₄	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	225-226
79	3-F-C ₆ H ₄	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	208-212
80	1-нафтил	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	233-235
81	C ₆ H ₅	Cl	CH ₃	CH ₃	244-246

Приклад 82

Порівняльна оцінка афінності зв'язування сполук, що тестуються, до 5-ГТ6

Афінність сполук, що тестуються, до рецептору серотоніну 5-ГТ6 оцінюють таким чином. Культивовані клітини HeLa, які експресують людські клоновані рецептори 5-ГТ6, збирають і центрифугують при низькій швидкості (1000×g) протягом 10 хвилин для видалення культурного середовища. Зібрані клітини суспендують в половині об'єму свіжого фізіологічного розчину з фосфатним буфером і повторно центрифугують при тій же швидкості. Операцію повторюють. Зібрані клітини потім гомогенізують в десяти об'ємах 50мМ Тріс-НСІ (рН 7,4) і 0,5мМ ЕДТК. Гомогенат центрифугують при 40000×g протягом 30 хвилин і осад збирають. Отриманий осад після центрифугування повторно суспендують в 10 об'ємах Тріс-НСІ буфера і повторно центрифугують при тій же швидкості. Кінцевий осад після центрифугування суспендують в невеликому об'ємі Тріс-НСІ буфера і вміст білка в тканині визначають в аліквотах об'ємом 10-25мкл. Альбумін бичачої сироватки застосовують як стандарт при визначенні білка по методу, описаному у [Lowry et al, J. Biol. Chem., 193:265 (1951)]. Об'єм суспендованих мембран клітин доводять до отримання концентрації білка в тканині 1,0мг/мл суспензії. Отриману суспензію мембран (концентровану в 10 раз) аліквотують в об'ємах 1,0мл і зберігають при температурі -70°C до застосування в подальших експериментах на зв'язування.

Експерименти на зв'язування проводять в 96-ямкових титрувальних мікропланшетах загальним об'ємом 200мкл. У кожен ямку додають наступну суміш: 80,0мкл інкубаційного буфера, отриманого в 50мМ Тріс-НСІ буфері (рН 7,4), що містить 10,0мМ MgCl₂ і 0,5мМ ЕДТК і 20мкл [³H]-ЛСД (S.A., 86,0Кі/ммоль, від Amersham Life Science), 3,0нМ. Константа дисоціації, K_d [³H]-ЛСД для людського рецептору серотоніну 5-ГТ6 становить 2,9нМ, що визначається насиченням зв'язування при концентраціях [³H]-ЛСД, що збільшуються. Реакцію починають додаванням 100,0мкл суспензії тканини. Неспецифічне зв'язування вимірюють в присутності 10,0мкМ метітетіну. Сполуки, що тестуються, додають в об'ємі 20,0мкл.

Реакцію проводять в темряві протягом 120 хвилин при кімнатній температурі, протягом чого пов'язаний комплекс ліганда-рецептора відфільтровують в 96-ямковий уніфільтр з харвестером Packard Filtermate® 196. Пов'язаний комплекс, уловлений на фільтрувальному диску, сушать на повітрі і його радіоактивність вимірюють на Packard TopCount®, обладнаному шістьма датчиками фотопомножувача, після додавання 40,0мкл сцинтилянту Microscint®-20 в кожний плоский осередок. Планшет з уніфільтром герметизують при нагріванні і зчитують на Packard TopCount® з ефективністю тритію 31,0%.

Специфічне зв'язування з рецепторами 5-ГТ6 визначають як загальну зв'язану радіоактивність за мінусом зв'язування в присутності 10,0мкМ неміченого метітетіну. Зв'язування в присутності різних концентрацій сполук, що тестуються, виражають в процентах специфічного зв'язування в порівнянні з відсутністю сполуки, що тестується. Результати наносять у вигляді логарифма % зв'язування по відношенню до логарифма концентрації сполуки, що тестується. Нелінійний регресійний аналіз даних проводять за допомогою програмного забезпечення Prism® з отриманням значень IC₅₀ і K_i сполук, що тестуються, з 95% достовірністю. Будують графік лінійної регресії даних, з якого визначають значення IC₅₀ і значення K_i визначають за допомогою наступного рівняння:

$$K_i = IC_{50} / (1 + L / K_D)$$

де L є концентрацією радіоактивного ліганду, що застосовується, і K_D є константою дисоціації ліганду

для рецептора, виражені в нМ.

У даному дослідженні визначають значення K_i і порівнюють їх зі значеннями, отриманими для порівняльних сполук, відомих зв'язуванням з рецептором 5-ГТ6. Дані показані в таблиці VI нижче.

Таблиця VI

Сполука, що тестується (приклад №)	K_i зв'язування 5-ГТ6 (нМ)
5	6
6	23
7	9
11	22
12	20
13	50
14	2
15	1
16	2
17	6
18	5
19	5
20	11
21	2
22	2
23	9
24	3
25	15
26	4
27	45
28	88
29	158
30	403
32	5
33	4
34	2
35	20
36	102
37	9
38	12
39	212
40	10
41	41
42	39
43	27
44	63
45	10
46	10
47	7
48	2
49	14
50	1
51	3
52	3
53	11
54	94
55	4
56	2
57	0,3
58	1
59	1
60	3
61	9
62	1
65	6
66	2
67	24
68	14
76	56
77	200
78	4
79	11

80	2
81	214
Порівняльні приклади	K _i зв'язування 5-ГТ6 (нМ)
Клозапін	6,0
Локсапін	41,4
Бромокріптин	23,0
Метіотепін	8,3
Міансерин	44,2
Оланзепін	19,5

Як можна бачити з показаних вище результатів, сполуки відповідно до даного винаходу демонструють значну афінність до рецептору 5-ГТ6.