



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112564** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)**C07D 401/12** (2006.01)**C07D 401/14** (2006.01)**A61K 31/454** (2006.01)**A61K 31/4545** (2006.01)

A61P 3/00

A61P 25/00

A61P 29/00

A61P 35/00

C07D 405/14 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2014 06961	(72) Винахідник(и): Алісі Марія Алессандра (ІТ), Каццолла Нікола (ІТ), Драгоне Патріція (ІТ), Фурлотті Гвідо (ІТ), Мaudжері Катеріна (ІТ), Омбрато Розелла (ІТ), Манчіні Франческа (ІТ)
(22) Дата подання заявки: 07.02.2013	(73) Власник(и): АЦЬЄНДЕ КІМІКЕ РІУНІТЕ АНДЖЕЛІНІ ФРАНЧЕСКО А.ЧІ.Р.А.Ф. С.П.А., Viale Amelia, 70, I-00181 Roma, Italy (IT)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.09.2016	(74) Представник: Ошарова Ірина Олександрівна, реєстр. №9
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 12156292.0	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2011/112161 A1, 12.05.2011 WO 2008/154241 A1, 18.12.2008 WO 2004/074275 A1, 02.09.2004
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 21.02.2012	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 27.10.2014, Бюл.№ 20	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.09.2016, Бюл.№ 18	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/EP2013/052400, 07.02.2013	

(54) 1Н-ІНДАЗОЛ-3-КАРБОКСАМІДНІ СПОЛУКИ ЯК ІНГІБІТОРИ ГЛІКОГЕНСИНТАЗА-КІНАЗИ 3-БЕТА**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується 1Н-індазол-3-карбоксамідних сполук як інгібіторів глікогенсинтаза-кінази 3-бета (GSK-3 β) та їх застосування у лікуванні GSK-3 β -пов'язаних розладів, таких як, наприклад, (i) інсулінорезистентні розлади; (ii) нейродегенеративні захворювання; (iii) розлади настрою; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади; (vi) запалення, (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

870

UA 112564 C2

ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

Даний винахід відноситься до 1H-індазол-3-карбоксамідних сполук, що діють як інгібітори глікоген-синтаза-кінази 3 бета (GSK-3 β) та до їх застосування у лікуванні GSK-3 β -зв'язаних розладів, таких як: (i) інсуліно-резистентні розлади; (ii) нейродегенеративні захворювання; (iii) розлади настрою; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади; (vi) запалення, (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Протеїнкінази складають велике сімейство структурно зв'язаних ферментів, які переносять фосфатні групи з високоенергетичних донорських молекул (таких як аденозин-трифосфат, АТФ) до специфічних субстратів, звичайно білків. Після фосфорилування, субстрат піддається функціональній зміні, шляхом якої кінази можуть модулювати різні біологічні функції.

Загалом, протеїнкінази можуть бути розділені на декілька груп у відповідності із субстратом, який фосфорилується. Наприклад, серін/треонін кіназа фосфорилує гідроксильну групу на бічному ланцюзі серінової або треонінової амінокислоти.

Глікоген-синтаза-кінази 3 (GSK-3) являють собою конститутивно активні багатофункціональні ферменти, досить нещодавно відкриті, що належать до серін/треонін кіназної групи.

Людські GSK-3 кодуються двома різними та незалежними генами, які ведуть до GSK-3 α та GSK-3 β білків, з молекулярними масами приблизно 51 та 47 кДа, відповідно. Дві ізоформи мають майже ідентичні послідовності у їх кіназних доменах, у той час як зовні кіназного домену, їх послідовності суттєво відрізняються (Benedetti et al., *Neuroscience Letters*, 2004, 368, 123-126). GSK-3 α являє собою багатофункціональну протеїн-серін-кіназу та GSK-3 β являє собою серін-треонін-кіназу.

Було знайдено, що GSK-3 β широко експресуються у всіх тканинах, з широко розповсюдженою експресією у мозку дорослих, що передбачає фундаментальну роль у нейрональних сигнальних шляхах (Grimes and Jope, *Progress in Neurobiology*, 2001, 65, 391-426). Інтерес у глікоген-синтаза-кіназах 3 виникає з їх ролі у різних фізіологічних шляхах, таких як, наприклад, метаболізм, клітинний цикл, генна експресія, ембріональний розвиток, онкогенез та нейропротекція (Geetha et al., *British Journal Pharmacology*, 2009, 156, 885-898).

GSK-3 β спочатку була ідентифікована завдяки її ролі у регулюванні глікоген-синтази для перетворення глюкози у глікоген (Embi et al., *Eur J Biochem*, 1980, 107, 519-527). GSK-3 β показала високий ступінь специфічності до глікоген-синтази.

Діабет типу 2 був першим хворобливим станом, пов'язаним з GSK-3 β , завдяки її негативному регулюванню деяких аспектів інсулінового сигнального шляху. У зазначеному шляху 3-фосфоінозитид-залежна протеїн-кіназа 1 (PDK-1) активує PKB, який у свою чергу інактивує GSK-3 β . Ця інактивація GSK-3 β веде до дефосфорилування та активації глікоген-синтази, що сприяє синтезу глікогену (Cohen et al., *FEBS Lett.*, 1997, 410, 3-10). Більше того, селективні інгібітори GSK-3 β , як очікується, посилюють інсулінове сигналювання у скелетних м'язах перед-діабетичних інсулін-резистентних щурів, таким чином роблячи GSK-3 β привабливою цілью для лікування інсулінової резистентності у скелетних м'язах у перед-діабетичному стані (Dokken et al., *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2005, 288, E1188-E1194).

Також знайдено, що GSK-3 β є потенційною лікарською цілью у інших патологічних станах через інсуліно-резистентні розлади, такі як синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників (Ring DB et al., *Diabetes*, 2003, 52: 588-595).

Було знайдено, що GSK-3 β залучена у аномальне фосфорилування патологічного тау (tau) у хворобі Альцгеймера (Hanger et al., *Neurosci. Lett.*, 1992, 147, 58-62; Mazanetz and Fischer, *Nat Rev Drug Discov.*, 2007, 6, 464-479; Hong and Lee, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 19547-19553). Більше того, доведено, що рання активація GSK-3 β , спричинена аполіпропротеїном ApoE4 та β -амілоїдом, могла б привести до апоптозу та тау гіперфосфорилування (Cedazo-Minguez et al., *Journal of Neurochemistry*, 2003, 87, 1152-1164). Серед інших аспектів хвороби Альцгеймера, було повідомлене про значимість активації GSK-3 β на молекулярному рівні (Hernandez and Avila, *FEBS Letters*, 2008, 582, 3848-3854).

Більше того, було продемонстровано, що GSK-3 β залучена у генезис та підтримання нейродегенеративних змін, пов'язаних з хворобою Паркінсона (Duka T. et al., *The FASEB Journal*, 2009; 23, 2820-2830).

Відповідно до цих експериментальних спостережень, інгібітори GSK-3 β можуть знайти застосування у лікуванні невропатологічних наслідків та когнітивного дефіциту та дефіциту уваги, пов'язаних з тауопатіями; хвороби Альцгеймера; хвороби Паркінсона; хвороби Гентінгтона (залучення GSK-3 β у такі дефіцити та захворювання розкрито у Meijer L. et al.,

TRENDS Pharm Sci, 2004; 25, 471-480); деменції, такої як, не обмежуючись наведеними, судинна деменція, післятравматична деменція, деменція, спричинена менінгітом та подібних; гострого інсульту; травматичних ушкоджень; цереброваскулярних інсультів; травми головного мозку та спинного мозку; периферичних невропатій; ретинопатій та глаукоми (залучення GSK-3 β у такі стани розкриті у WO 2010/109005).

Лікування спінальних нейродегенеративних розладів, таких як бічний аміотрофічний склероз, розсіяний склероз, спінальна м'язова атрофія та нейродегенерація через ураження спинного мозку, як також було виявлене у деяких дослідженнях, пов'язане з інгібуванням GSK-3 β , таких як, наприклад, у Calderó J. et al., "Lithium prevents excitotoxic cell death of motoneurons in organotypic slice cultures of spinal cord", Neuroscience. 2010 Feb 17;165(4):1353-69, Léger B. et al., "Atrogin-1, MuRF1, and FoXO, as well as phosphorylated GSK-3 β and 4E-BP1 are reduced in skeletal muscle of chronic spinal cord-injured patients", Muscle Nerve, 2009 Jul; 40(1):69-78, та Galimberti D. et al., "GSK3 β genetic variability in patients with Multiple Sclerosis", Neurosci Lett. 2011 Jun 15; 497(1):46-8.

Крім того, GSK-3 β пов'язана з розладами настрою, такими як біполярні розлади, депресія та шизофренія.

Інгібування GSK-3 β може бути важливою терапевтичною ціллю стабілізаторів настрою, та регулювання GSK-3 β може бути залучене у терапевтичні ефекти інших лікарських засобів, що використовуються у психіатрії. Дисрегульована GSK-3 β у розладі настрою, біполярному розладі, депресії та шизофренії могла мати множинні ефекти, які могли ослаблювати нейрональну пластичність, такі як модулювання нейрональної архітектури, нейрогенез, генна експресія та здатність нейронів відповідати на стресові, потенційно летальні стани (Jope and Roh, Curr. Drug Targets, 2006, 7, 1421-1434).

Роль GSK-3 β у розладі настрою висвітлена дослідженнями літію та вальпроату (Chen et al., J. Neurochem., 1999, 72, 1327-1330; Klein and Melton, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93, 8455-8459), обидва з яких є інгібіторами GSK-3 β та використовуються для лікування розладів настрою. Також існують повідомлення з генетичної області, що підтримують роль GSK-3 β у хворобливій фізіології біполярного розладу (Gould, Expert. Opin. Ther. Targets, 2006, 10, 377-392).

Повідомлялося про зниження AKT1 білкових рівнів та їх фосфорилування GSK-3 β при Серіні-9 у периферичних лімфоцитах та мізках індивідумів з шизофренією. Відповідно, ця знахідка підтримує свідчення того, що зміни у AKT1-GSK-3 β сигналюванні роблять свій внесок у патогенез шизофренії (Emamian et al., Nat Genet, 2004, 36, 131-137).

Крім того, роль GSK-3 β у раку є загально визнаним явищем.

Потенціал невеликих молекул, які інгібують GSK-3 β , доведений для деяких специфічних лікувань раку (Jia Luo, Cancer Letters, 2009, 273, 194-200). GSK-3 β експресія та активація пов'язані з прогресування раку передміхурової залози (Rinnab et al., Neoplasia, 2008, 10, 624-633) та інгібування GSK3 β також запропоноване як специфічна ціль для раку підшлункової залози (Garcea et al., Current Cancer Drug Targets, 2007, 7, 209-215) та раку яєчників (Qi Cao et al., Cell Research, 2006, 16 671-677). Сильне інгібування GSK-3 β у раку клітин ободової та прямої кишки активує p53-залежний апоптоз та антагонізує ріст пухлини (Ghosh et al., Clin Cancer Res 2005, 11, 4580-4588).

Визначення функціональної ролі GSK-3 β у MLL-асоційованій лейкемії дає висновок, що GSK-3 β інгібування може бути багатообіцяючою терапією, яка є селективною для трансформованих клітин, які залежать від HOX надекспресування (Birch et al., Cancer Cell, 2010, 17, 529-531).

GSK-3 β залучена у численні запальні сигнальні шляхи, наприклад, серед інших GSK-3 β інгібування, як показано, спричиняє секрецію протизапального цитокіну IL-10. У відповідності з цією знахідкою, GSK-3 β інгібітори могли б бути корисними у регулюванні пригнічення запалення (G. Klammer et al., Current Medicinal Chemistry, 2010, 17(26), 2873-2281, Wang et al., Cytokine, 2010, 53, 130-140).

GSK-3 β інгібування, як також показано, пом'якшують викликану кокаїном поведінку у мишей. Введення кокаїну мишам, при попередньому лікуванні інгібітором GSK-3 β , показало, що фармакологічне інгібування GSK3 зменшувало як гострі поведінкові реакції на кокаїн, так і тривалі нейроадаптації, викликані повторним введенням кокаїну (Cocaine-induced hyperactivity and sensitization are dependent on GSK3, Miller JS et al. Neuropharmacology. 2009 Jun; 56(8):1116-23, Epub 2009 Mar 27).

Роль GSK-3 β у розвитку деяких форм епілептичних нападів продемонстрована у деяких дослідженнях, які роблять висновок про те, що інгібування GSK-3 β може бути шляхом для лікування епілепсії (Novel glycogen synthase kinase 3 and ubiquitination pathways in progressive

myoclonus epilepsy, Lohi H et al., Hum Mol Genet. 2005 Sep 15;14(18):2727-36 та Hyperphosphorylation and aggregation of Tau in laforin-deficient mice, an animal model for Lafora disease, Puri R et al., J Biol Chem. 2009 Aug 21;284(34):22657-63).

Взаємозв'язок між GSK-3 β інгібуванням та лікуванням невропатичного болю продемонстрований у Mazzardo-Martins L. et al., "Glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418 decreases neuropathic pain in mice: evidence for the mechanisms of action", Neuroscience. 2012 Dec 13; 226, та Xiaoping Gu et al., "The Role of Akt/GSK3 β Signaling Pathway in Neuropathic Pain in Mice", Poster A525, Anesthesiology 2012 October 13-17, 2012 Washington.

Огляд стосовно GSK-3 β , її функцій, її терапевтичного потенціалу та її можливих інгібіторів представлений у "GSK-3 β : role in therapeutic landscape and development of modulators" (S. Phukan et al., British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1-19).

WO 2004/014864 розкриває 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки як інгібітори селективних циклін-залежних кіназ (CDK). Такі сполуки, як визначено, є корисними у лікуванні раку через механізм, опосередкований CDK₂, та нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера, через механізм, опосередкований CDK₅, та як противірусний та протигрибковий засіб, через механізм, опосередкований CDK₇, CDK₈ та CDK₉.

Циклін-залежні кінази (CDK) являють собою серін/треонін кінази, спочатку виявлені за їх роль у регулюванні клітинного циклу. CDK є також залученими у регулювання транскрипції, мРНК процесинг та диференціацію нервових клітин. Такі кінази активуються тільки після їх взаємодії та зв'язування з регуляторними субодинамиціями, а саме циклінами.

Більше того, 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки також описані як знеболюючі засоби у лікуванні хронічного та невропатичного болю (дивись, наприклад, WO 2004/074275 та WO 2004/101548) та як антагоністи 5-HT₄ рецептору, корисні у лікуванні шлунково-кишкових розладів, розладів центральної нервової системи та серцево-судинних розладів (дивись, наприклад, WO 1994/10174).

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

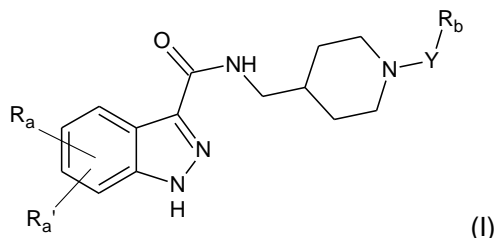
Так як тільки нещодавно GSK-3 β було відкрито як фармакологічну ціль, існує велика необхідність у пошуку сполук, які селективно інгібують GSK-3 β .

Заявник неочікувано виявив нові 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки відповідно до наступної формули (I).

Заявник неочікувано виявив, що зазначені нові сполуки формули (I) здатні інгібувати GSK-3 β та мають дуже високу афінність до GSK-3 β у порівнянні з іншими кіназами. Таким чином, зазначені сполуки здатні селективно інгібувати GSK-3 β .

Відповідно, сполуки у відповідності з даним винаходом є корисними для лікування патологічних станів, що виникають з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраних з групи, що включають (i) інсуліно-резистентні розлади, такі як діабет типу 2, синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників; (ii) нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, хвороба Гентінгтона та спінальні нейродегенеративні розлади; (iii) розлади настрою, такі як біполярні розлади та депресивні розлади; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади, такі як рак передміхурової залози, підшлункової залози, яєчників та рак ободової та прямої кишки та MLL-асоційована лейкемія; (vi) запалення; (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

Далі, у першому аспекті, даний винахід відноситься до 1H-індазол-3-карбоксамідних сполук, що мають наступну загальну формулу (I)



у якій

R_a та R_{a'}, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідрокси групу; C₁-C₆ алکیلну, C₂-C₆ алкенільну, C₂-C₆ алкінільну та C₁-C₆ алкокси групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, -NH₂ та C₁-C₃ алкокси група; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів,

необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси група, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$;

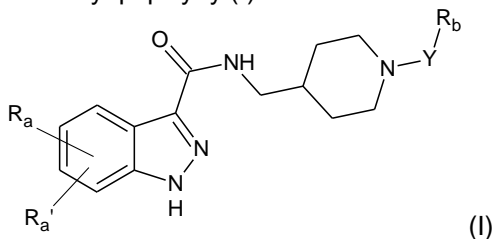
5 Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкілну, C_2 - C_6 алкенільну або C_2 - C_6 алкінілну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$, та C_1 - C_3 алкокси група;

R_b являє собою C_1 - C_6 алкокси групу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NO_2$; $-NHC(O)R_1$;

R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкілну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінілну групу, та фенільну групу;

10 та їх солей приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами.

У другому аспекті, даний винахід відноситься до застосування 1H-індазол-3-карбоксамідних сполук, що мають наступну загальну формулу (I)



15 у якій

R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідрокси групу; C_1 - C_6 алкілну, C_2 - C_6 алкенільну, C_2 - C_6 алкінілну та C_1 - C_6 алкокси групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкокси група; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси група, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$;

20 Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкілну, C_2 - C_6 алкенільну або C_2 - C_6 алкінілну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкокси група;

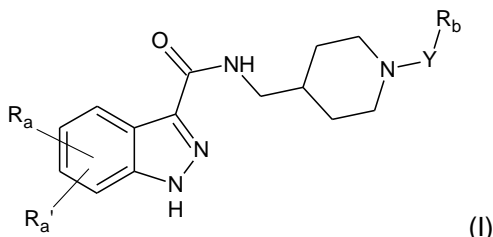
R_b являє собою C_1 - C_6 алкокси групу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NO_2$; $-NHC(O)R_1$;

R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкілну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінілну групу та фенільну групу;

30 та їх солей приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами;

для лікування захворювання, що виникає з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраних з групи, що складається з таких як: (i) інсуліно-резистентні розлади, такі як діабет типу 2, синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників; (ii) нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, хвороба Гентінгтона та спінальні нейродегенеративні розлади; (iii) розлади настрою, такі як біполярні розлади та депресивні розлади; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади, такі як рак передміхурової залози, підшлункової залози, яєчників та рак ободової та прямої кишки та MLL-асоційована лейкемія; (vi) запалення; (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

40 У додатковому аспекті, даний винахід відноситься до способу лікування патологічного стану, що виникає з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраного з групи, що складається з таких як: (i) інсуліно-резистентні розлади, такі як діабет типу 2, синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників; (ii) нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, хвороба Гентінгтона та спінальні нейродегенеративні розлади; (iii) розлади настрою, такі як біполярні розлади та депресивні розлади; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади, такі як рак передміхурової залози, підшлункової залози, яєчників та рак ободової та прямої кишки та MLL-асоційована лейкемія; (vi) запалення; (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль, шляхом введення людині, яка потребує такого лікування, ефективної кількості 1H-індазол-3-карбоксаміду, що має наступну загальну формулу (I)



у якій

R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідрокси групу; C_1 - C_6 алкільну, C_2 - C_6 алкенільну, C_2 - C_6 алкінільну та C_1 - C_6 алкокси групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$, та C_1 - C_3 алкокси група; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси група, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$;

Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкільну, C_2 - C_6 алкенільну або C_2 - C_6 алкінільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкокси група;

R_b являє собою C_1 - C_6 алкокси групу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NO_2$; $-NHC(O)R_1$;

R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та феноільну групу;

та його солей приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами.

Даний винахід також включає проліки, стереоізомери та енантіомери сполук формули (I) описаних вище.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ДАНОГО ВИНАХОДУ

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{1-6} алкіл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 1 до 6 атомів вуглецю, таку як метил, етил, пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, втор-пентил, 3-пентил, ізо-пентил, нео-пентил, н-гексил, втор-гексил та нео-гексил.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{1-4} алкіл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 1 до 4 атомів вуглецю, таку як метил, етил, пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, втор-бутил та трет-бутил.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{1-3} алкіл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 1 до 3 атомів вуглецю, таку як метил, етил, пропіл та ізопропіл.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{2-6} алкеніл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 2 до 6 атомів вуглецю та щонайменше один подвійний зв'язок, таку як етеніл (вініл), 1-пропеніл, 2-пропеніл (аліл), ізопропеніл, бутеніл, пентеніл та гексеніл.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{2-4} алкеніл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 2 до 4 атомів вуглецю та щонайменше один подвійний зв'язок, таку як етеніл (вініл), 1-пропеніл, 2-пропеніл (аліл), ізопропеніл та бутеніл.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{2-6} алкініл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 2 до 6 атомів вуглецю та щонайменше один потрійний зв'язок, таку як етиніл, 1-пропініл, 2-пропініл (пропаргіл), бутиніл, пентиніл та гексиніл.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{2-4} алкініл", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкільну групу, що має від 2 до 4 атомів вуглецю та щонайменше один потрійний зв'язок, таку як етиніл, 1-пропініл, 2-пропініл (пропаргіл) та бутиніл.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{1-6} алкокси", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкокси групу, що має від 1 до 6 атомів вуглецю, таку як метокси, етокси, н-пропокси, ізо-пропокси, н-бутокси, трет-бутокси, н-пентокси, втор-пентокси, ізопентокси та н-езилокси група.

По всьому даному опису та наступним пунктам формули винаходу, " C_{1-3} алкокси", як передбачається, показує лінійну або розгалужену алкокси групу, що має від 1 до 3 атомів вуглецю, таку як метокси, етокси, н-пропокси та ізо-пропокси група.

У відповідності з кращим варіантом втілення даного винаходу, значення R_a , R_a' , R_b та Y формули (I), представлені вище, розкриті у цьому описі нижче.

Переважно, R_a та R_a' , що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену, вибраний з хлору, бромов та йоду; C_1 - C_6 алкільну та C_1 - C_6 алкокси групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$, або C_1 - C_3 алкокси група; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має від 4 до 10 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси група, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$.

Більш переважно, R_a та R_a' , що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом галогену, вибраний з хлору та бромов; гідрокси групу; C_1 - C_6 алкільну групу; C_1 - C_6 алкокси групу; або карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має від 5 до 6 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що складається з таких як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси група, $-NR_1R_2$ та $-C(O)OH$.

Головним чином, зазначене карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має 5 або 6 членів, вибирають з таких як: феніл, піридин, піримідин, піразин, піридазин, пірол, фуран, тіофен, оксазол, ізоксазол, тіазол, ізотіазол, 2Н-піран, циклогексил, цикlopентил, піперидин, піперазин.

Навіть більш переважно, R_a та R_a' , що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом бромов; гідрокси групу; C_1 - C_3 алкокси групу; або ароматичне карбоциклічне або гетероциклічне кільце, що має 6 членів, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, вибраними з групи, що складається з таких як: галоген, гідрокси група, C_1 - C_3 алкіл, C_1 - C_3 алкокси група, $-NR_1R_2$ та $-C(O)OH$.

У кращому варіанті втілення, зазначене карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має 6 членів, вибирають з таких як: феніл, піридин, піримідин, піразин, піридазин, 2Н-піран, циклогексил, піперидин, піперазин.

У навіть більш кращому варіанті втілення, зазначене карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має 6 членів, вибирають з таких як: феніл, піридин, піримідин, 2Н-піран, циклогексил.

У навіть більш кращому варіанті втілення, зазначене карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що має 5 членів, вибирають з таких як: оксазол та ізоксазол.

Переважно, Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідрокси група, $-NH_2$, та C_1 - C_3 алкокси група.

Більш переважно, Y являє собою C_1 - C_6 алкільну групу.

Навіть більш переважно, Y являє собою C_1 - C_3 алкільну групу.

Переважно, R_b являє собою C_1 - C_6 алкокси групу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$ або $-NHCOR_1$.

Більш переважно, R_b являє собою C_1 - C_6 алкокси групу або $-C(O)OH$.

Навіть більш переважно, R_b являє собою C_1 - C_3 алкокси групу або $-C(O)OH$.

Переважно, R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу або фенільну групу.

Більш переважно, R_1 та R_2 незалежно являють собою C_1 - C_3 алкільну групу.

Навіть більш переважно, R_1 та R_2 обидва являють собою метильну групу.

Сполуки у відповідності з даним винаходом переважно використовують як солі з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами або основами.

Переважно, фармакологічно прийнятні органічні кислоти вибирають з групи, що складається з таких як: щавлева, малеїнова, метансульфонова, паратолуолсульфонова, бурштинова, лимонна, яблучна, винна та молочна кислота.

Переважно, фармакологічно прийнятні органічні основи вибирають з групи, що складається з таких як: трометамін, лізин, аргінін, гліцин, аланін та етаноламін.

Переважно, фармакологічно прийнятні неорганічні кислоти вибирають з групи, що складається з таких як: соляна, бромистоводнева, фосфорна та сірчана кислота.

Переважно, фармакологічно прийнятні неорганічні основи вибирають з групи, що складається з таких як: гідроксид або карбонат лужного або лужноземельного металів, таких як натрій, калій та кальцій.

Даний винахід також включає проліки, стереоізомери та енантіомери сполук формули (I), описаних вище.

Як використано у цьому описі, термін "проліки" відноситься до агенту, який перетворюється у вихідний лікарський засіб *in vivo* шляхом деякого фізіологічного хімічного процесу (наприклад, проліки при приведенні до фізіологічного pH перетворюються у бажану лікарську форму). Проліки часто є корисними, тому що, у деяких випадках, вони можуть бути легше введені, ніж вихідний лікарський засіб. Наприклад, вони можуть бути біодоступними шляхом перорального введення, в той час як вихідні сполуки ні. Проліки також можуть мати покращену розчинність у фармакологічних композиціях у порівнянні з вихідним лікарським засобом. Приклад проліків, без обмеження, включає сполуку даного винаходу, де вона вводиться у вигляді складного ефіру ("проліки") для полегшення переходу через клітинну мембрану, де розчинність у воді не є бажаною, але потім проліки метаболічно гідролізуються до карбонової кислоти всередині клітини, де розчинність у воді є бажаною.

Проліки мають багато корисних властивостей. Наприклад, проліки можуть бути більш розчинними у воді, ніж кінцевий лікарський засіб, таким чином, полегшуючи внутрішньовенне введення лікарського засобу. Проліки також можуть мати вищий рівень пероральної біодоступності, ніж кінцевий лікарський засіб. Після введення, ці проліки ферментативно або хімічно розщеплюються для доставки кінцевого лікарського засобу у кров або тканину.

Складноефірні проліки сполук, розкриті у цьому описі, специфічно розглянуті. Складний ефір може бути утворений з функціональної групи карбонової кислоти, зв'язаної зі сполукою формули (I), представленої вище, шляхом введення у реакцію зі спиртом або фенолом. Альтернативно, складний ефір може бути утворений з гідроксильної функціональної групи, зв'язаної зі сполукою формули (I), представленої вище, шляхом введення у реакцію з карбоною кислотою або амінокислотою. Не передбачаючи введення обмеження, складний ефір може являти собою алкільний складний ефір, арильний складний ефір або гетероарильний складний ефір. Термін алкіл приймає значення, в основному зрозуміло спеціалістам, кваліфікованим у даній галузі техніки, та відноситься до лінійного, розгалуженого або циклічного алкільних залишків. C₁₋₆алкільні складні ефіри є особливо корисними, коли алкільна частина складного ефіру має від 1 до 6 атомів вуглецю та включає, не обмежуючись наведеними, метил, етил, пропіл, ізопропіл, н-бутил, втор-бутил, ізо-бутил, трет-бутил, ізомери пентилу, ізомери гексилу, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, та їх комбінації, що мають 1-6 атомів вуглецю.

Сполуки даного винаходу у відповідності з формулою (I), представленою вище, можуть бути використані для лікування патологічного стану, що виникає з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраного з групи, що складається з таких як: (i) інсуліно-резистентні розлади; (ii) нейродегенеративні захворювання; (iii) розлади настрою; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади; (vi) запалення; (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; та (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

Головним чином, інсуліно-резистентні розлади являють собою діабет типу 2, синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників.

Головним чином, гострі та хронічні нейродегенеративні захворювання являють собою хворобу Паркінсона, хворобу Альцгеймера, хворобу Гентінгтона та спінальні нейродегенеративні розлади.

Переважно, спінальні нейродегенеративні розлади являють собою аміотрофічний бічний склероз, розсіяний склероз, спінальну м'язову атрофію та нейродегенерацію через ураження спинного мозку.

Головним чином, розлади настрою являють собою біполярні розлади та депресивні розлади.

Переважно, біполярні розлади являють собою біполярний I, біполярний II розлад, циклотимію та біполярний неспецифічний розлад (BD-NOS).

Переважно, депресивні розлади являють собою глибокий депресивний розлад (MDD), атипову депресію (AD), меланхолічну депресію, психотичну глибоку депресію (PMD), кататонічну депресію, післяпологову депресію (PPD), сезонний афективний розлад (SAD), дистимію, та неспецифічний депресивний розлад (DD-NOS).

Головним чином, шизофренічні розлади являють собою параноїдальну шизофренію, гебефренічну шизофренію, кататонічну шизофренію, звичайну шизофренію, залишкову шизофренію та недиференційовану шизофренію.

Головним чином, ракові розлади являють собою рак передміхурової залози, підшлункової залози, яєчників та рак ободової та прямої кишки та MLL-асоційовану лейкемію.

Головним чином, розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами, являють собою розлади, пов'язані із зловживанням психостимулянтами.

Як правило, 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки у відповідності з формулою (I), корисні у

даному винаході, вводять у формі фармацевтичної композиції.

Відповідно, додатковий аспект даного винаходу відноситься до фармацевтичної композиції, що включає щонайменше одну сполуку формули (I), як описано вище, та щонайменше один інертний фармакологічно прийнятний ексципієнт.

5 Переважно, фармацевтичну композицію даного винаходу одержують у підходящих лікарських формах, що включають ефективну кількість щонайменше однієї сполуки формули (I), як описано вище, її солі з фармакологічно прийнятною органічною або неорганічною кислотою або основою, або її проліків, та щонайменше один інертний фармакологічно прийнятний ексципієнт.

10 Приклади підходящих лікарських форм включають таблетки, капсули, покриті таблетки, гранули, розчини та сиропи для перорального введення; розчини, помаду та мазь для місцевого застосування; лікарські пластири для крізьшкірного введення; супозиторії для ректального введення та ін'єкційні стерильні розчини.

15 Інші підходящі лікарські форми включають лікарські форми з уповільненим вивільненням та лікарські форми на основі ліпосом для перорального, ін'єкційного або крізьшкірного введення.

Лікарські форми також можуть містити інші традиційні інгредієнти такі як: консерванти, стабілізатори, поверхнево-активні речовини, буфери, солі для регулювання осмотичного тиску, емульгатори, підсолоджувачі, барвники, ароматизатори та подібні.

20 Кількість 1H-індазол-3-карбоксаміду у відповідності з формулою (I) або її фармакологічно прийнятною солі приєднання кислоти у фармацевтичній композиції даного винаходу може варіюватися у широкому інтервалі в залежності від відомих факторів, наприклад, типу патології, серйозності хвороби, маси тіла пацієнта, лікарської форми, вибраного шляху введення, кількості введення на день та ефективності вибраної 1H-індазол-3-карбоксамідної сполуки у відповідності з формулою (I). Однак, спеціаліст, кваліфікований у даній галузі техніки, може визначити

25 оптимальну кількість легким та рутинним способом. Як правило, кількість сполуки формули (I) або її фармакологічно прийнятною солі приєднання кислоти у фармацевтичній композиції даного винаходу буде такою, щоб забезпечити рівень введення від 0,0001 до 100 мг/кг/день. Переважно, рівень введення становить від 0,001 до 50 мг/кг/день, та навіть більш переважно від 0,01 до 10 мг/кг/день.

30 Лікарські форми фармацевтичної композиції даного винаходу можуть бути одержані за технологіями, які є відомими хіміку-фармацевту, та включають змішування, гранулювання, пресування, розчинення, стерилізацію та подібне.

Необмежуючі приклади сполук формули (I), які є корисними у відповідності до даного винаходу, являють собою сполуки наступної таблиці 1.

Таблица 1

	IUPAC назва	Структура
1	[4-(((5-метокси-1H-індазол-3-іл)-карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтова кислота	
2	5-метокси-N-{{1-(2-метоксиетил)-піперидин-4-іл]метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	
3	[4-(((5-метокси-1H-індазол-3-іл)-карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]пропіонова кислота	

Таблиця 1

	IUPAC назва	Структура
4	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(піридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
5	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(4-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
6	5-(2-фторфеніл)-N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	
7	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(6-метилпіридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
8	5-(2,3-дифторфеніл)-N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	
9	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-феніл-1H-індазол-3-карбоксамід	
10	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(5-метилпіридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
11	5-(4-гідроксифеніл)-N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	

Таблиця 1

	IUPAC назва	Структура
12	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(4-метоксифеніл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
13	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(4-метилфеніл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
14	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(2-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
15	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(6-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
16	N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-5-(2-метилфеніл)-1H-індазол-3-карбоксамід	
17	4-[3-({{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}карбамоїл)-1H-індазол-5-іл]бензойна кислота	
18	5-(2-етокси-4,5-дифторфеніл)-N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	
19	5-бром-N-{{1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід	

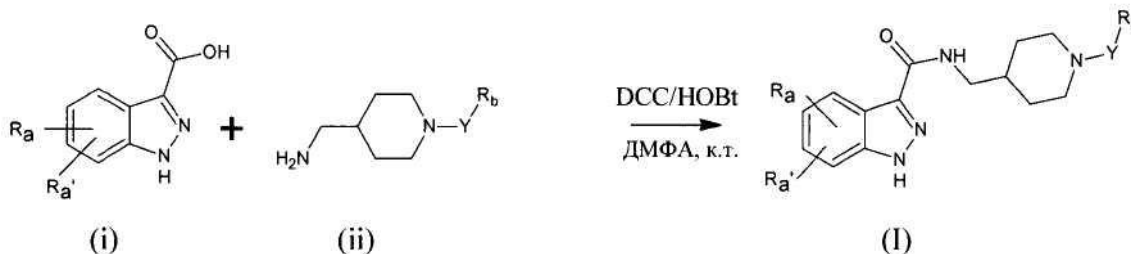
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

¹H-ЯМР спектроскопія: внутрішній стандарт = Тетраметилсилан; ДМСО-d₆ = дейтерований диметил-сульфоксид; (s) = синглет; (d) = дуплет; (t) = триплет; (br) = широкий; (dd) = дуплет дуплетів; (dt) = дуплет триплетів; (ddd) = дуплет дуплетів дуплетів; (dtd) = дуплет триплетів дуплетів; (m) = мультиплет; J = константа взаємодії; δ = хімічний зсув (у ppm).

5 Одержання сполук формули (I)

Сполуки формули (I) можуть бути одержані за способами, відомими спеціалістам, кваліфікованим у даній галузі техніки, наприклад, шляхом наступних способів A-D.

Спосіб A

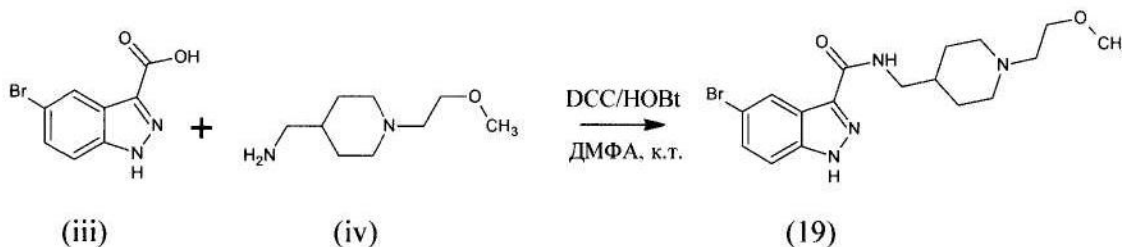


10 1-Гідроксибензотриазол (HOBt, 7,40 г, 54,8 ммоль) та N, N'-дициклогексилкарбодіїмід (DCC, 11 г, 53,3 ммоль) додають до розчину підходящої заміщеної 1H-індазол-3-карбонової кислоти (сполука i, 12 г, 49,8 ммоль) у ДМФА (200 мл) при 0 °C. Через 1 годину, розчин підходящого 1-заміщеного [піперидин-4-іл]метанаміну (сполука ii, 10 г, 58,1 ммоль) у ДМФА (100 мл) додають при цій же температурі. Зазначену суміш перемішують при 0 °C впродовж 2 годин потім її залишають досягати кімнатної температури впродовж ночі. Зазначену суміш розводять за допомогою AcOEt далі тверду речовину видаляють фільтруванням. Цей розчин екстрагують три рази за допомогою соляної кислоти (HCl) 2н. рН кислотної фази підвищують (приблизно 13) за допомогою 5н NaOH та розчин екстрагують три рази за допомогою дихлорметану (ДХМ). Органічну фазу сушать за допомогою безводного Na₂SO₄.

20 Розчинник відфільтровують, випарюють при зниженому тиску та залишок відповідним чином очищують.

Наприклад, сполука (19) може бути одержана у відповідності зі способом A як описано нижче.

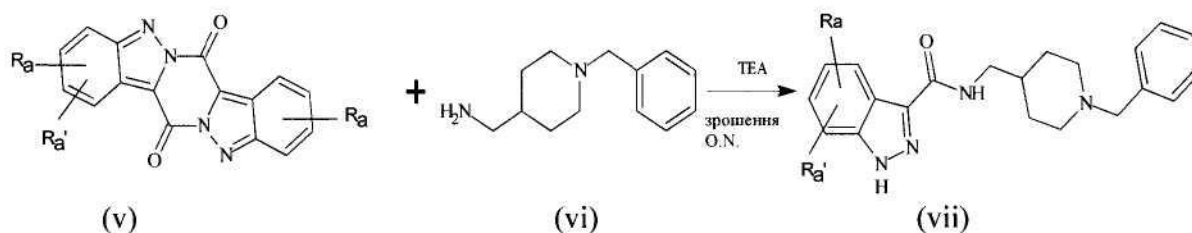
Сполука (19)



25 1-Гідроксибензотриазол (HOBt, 7,40 г, 54,8 ммоль) та N, N'-дициклогексилкарбодіїмід (DCC, 11 г, 53,3 ммоль) додають до розчину 5-бром-1H-індазол-3-карбонової кислоти (сполука iii, 12 г, 49,8 ммоль) у ДМФА (200 мл) при 0 °C. Через 1 годину, розчин 1-[1-(2-метоксиетил)піперидин-4-іл]метанаміну (сполука iv, 10 г, 58,1 ммоль) у ДМФА (100 мл) додають при цій же температурі. Зазначену суміш перемішують при 0 °C впродовж 2 годин потім її залишають досягати кімнатної температури впродовж ночі. Зазначену суміш розводять за допомогою AcOEt далі тверду речовину видаляють фільтруванням. Цей розчин екстрагують три рази за допомогою 2н HCl. рН кислотної фази підвищують (приблизно 13) за допомогою 5н NaOH та розчин екстрагують три рази за допомогою ДХМ. Органічну фазу сушать за допомогою безводного Na₂SO₄.

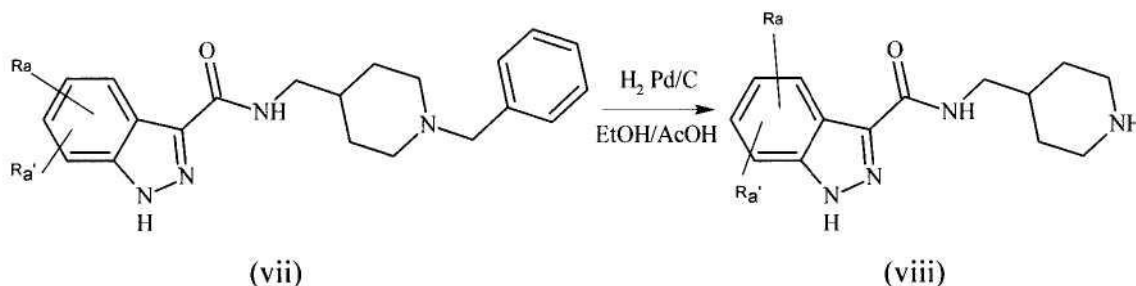
35 Розчинник відфільтровують, випарюють при зниженому тиску та залишок очищують за допомогою флеш хроматографії (SiO₂, CHCl₃/MeOH=85/15).

Сполуку (19), отриману таким чином, очищують як розкрито у Таблиці 2, отримуючи 9,5 г твердої речовини.

Спосіб ВПерша стадія:

До суспензії підходящої сполуки (v) (2,13 г; 0,0061 моль) у толуолі (50 мл) додають краплинним способом розчин 1-(1-бензилпіперидин-4-іл)метанаміну (сполука vi; 2,52 г; 0,012 моль), отриманого як описано у WO 94/10174, та триетиламін (TEA; 3,2 мл; 0,023 моль) у толуолі (10 мл). Зазначену реакційну суміш нагрівають при зрошенні впродовж 12 годин, та потім фільтрують. Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску та залишок переносять у етилацетат. Органічну фазу переносять у ділительну лійку, промивають насиченим NaHCO_3 розчином та водою, відділяють та сушать над Na_2SO_4 .

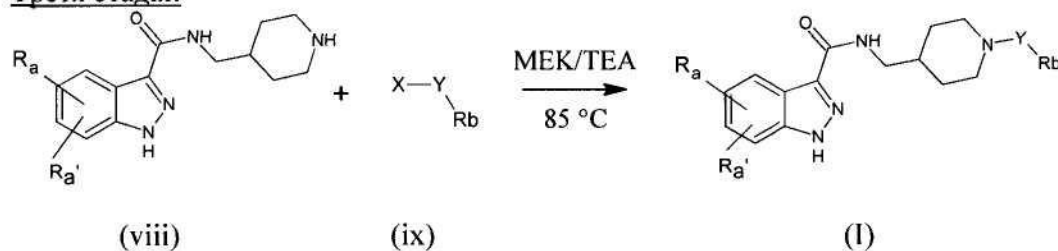
Отриманий продукт (vii) кристалізують відповідним чином.

Друга стадія:

Розчин підходящого N-[(1-бензилпіперидин-4-іл)метил]-1H-індазол-3-карбоксаміду (сполука vii; 0,506 г; 1,34 ммоль) у абсолютному етанолі (8 мл) та льодяної оцтової кислоти (0,8 мл) гідрогенізують у мікрореакторній проточній системі (H-Cube) використовуючи CartCart Pd/C 10 % як картридж. Встановлюють наступні ключові параметри H-Cube: температура 80°; тиск 10 бар; потік 1 мл/хвилину.

Через три години, цей розчин концентрують за допомогою зниженого тиску, розбавляють водою та переносять у ділительну лійку. Водну фазу потім промивають етилацетатом, роблять лужним за допомогою 1н NaOH та екстрагують етилацетатом. Органічні шари збирають, сушать над Na_2SO_4 та розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску.

Отриману таким чином тверду речовину сушать у печі під вакуумом, що приводить до одержання 0,27 г бажаного заміщеного N-(піперидин-4-ілметил)-1H-індазол-3-карбоксаміду (viii), який використовують без будь-якого додаткового очищення.

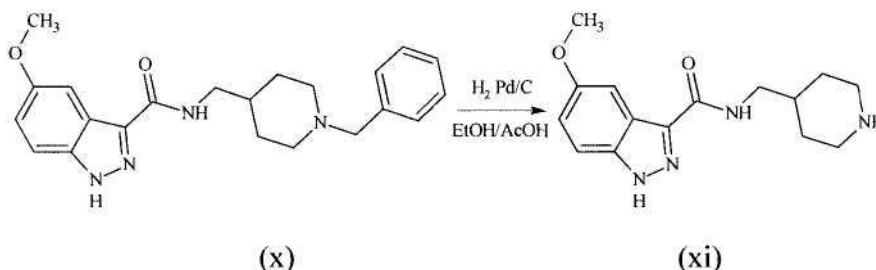
Третя стадія:

До розчину сполуки (viii) (0,75 ммоль; 215 мг) у метил-етил-кетоні (МЕК; 9 мл), що перемішують при 85 °С, додають краплинним способом підходящу галогеновану сполуку (ix;

1,05 екв.) та триетиламін (TEA; 210 мкл; 2 екв.). Зазначену реакційну суміш нагрівають при зрошенні впродовж 8 годин, потім охолоджують та розбавляють етилацетатом. Органічний шар промивають насиченим NH_4Cl розчином та водою. Органічну фазу відділяють та сушать над Na_2SO_4 .

5 Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску, та продукт (I) очищують як описано нижче.

Наприклад, сполука (2) може бути одержана у відповідності зі способом В як описано нижче:



10

Розчин N-[(1-бензилпіперидин-4-іл)метил]-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксаміду (сполука x; 0,506 г; 1,34 ммоль) у абсолютному етанолі (8 мл) та льодяну оцтову кислоту (0,8 мл) гідрогенізують у мікрореакторній проточній системі (H-Cube), використовуючи CartCart Pd/C 10 % як картридж. Встановлюють наступні ключові параметри H-Cube: температура 80°; тиск 10 бар; потік 1 мл/хвилину.

15

Через три години, цей розчин концентрують за допомогою зниженого тиску, розбавлять водою та переносять у ділильну лійку. Водну фазу потім промивають етилацетатом, роблять лужним за допомогою 1н NaOH та екстрагують етилацетатом. Органічні шари збирають, сушать над Na_2SO_4 та розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску.

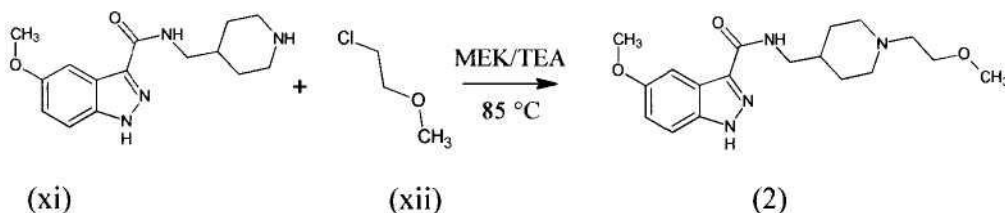
20

Отриману таким чином тверду речовину сушать у печі під вакуумом, що приводить до одержання 0,27 бажаного 5-метокси-N-(піперидин-4-ілметил)-1H-індазол-3-карбоксаміду (xi), який використовують без будь-якого додаткового очищення.

25

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 -300 МГц): δ 13,43 (br. s., 1H), 8,27 (t, J=6,13 Гц, 1H), 7,56 (d, J=2,01 Гц, 1H), 7,51 (dd, J=0,55, 8,96 Гц, 1H), 7,06 (dd, J=2,47, 9,06 Гц, 1H), 6,81 (br. s., 1H), 3,81 (s, 3H), 3,19 (t, J=6,22 Гц, 2H), 3,04 (d, J=5,12 Гц, 2H), 2,93 (s, 3H), 2,85 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,38 (t, J=6,77 Гц, 2H), 1,91 (t, J=10,61 Гц, 2H), 1,45-1,72 (m, 3H), 1,04-1,34 (m, 2H).

[M.M.+H $^+$] розраховано 289,1665; [M.M.+H $^+$] знайдено 289,1648.

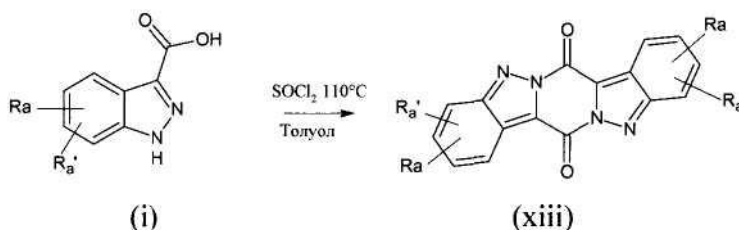


30

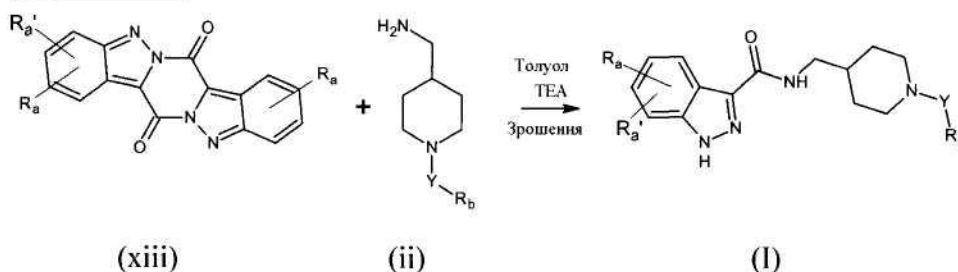
До розчину сполуки (xi) (0,75 ммоль; 215 мг) у метил-етил-кетоні (МЕК; 9 мл), що перемішують при 85 °С, додають краплинним способом 1-хлор-2-метокси-етан (xii; 1,05 екв.) та триетиламін (TEA; 210 мкл; 2 екв.). Зазначену реакційну суміш нагрівають при зрошенні впродовж 8 годин, потім охолоджують та розбавляють етилацетатом. Органічний шар промивають насиченим NH_4Cl розчином та водою. Органічну фазу відділяють та сушать над Na_2SO_4 .

35

Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску, та сполуку (2) очищують як описано нижче у Таблиці 2.

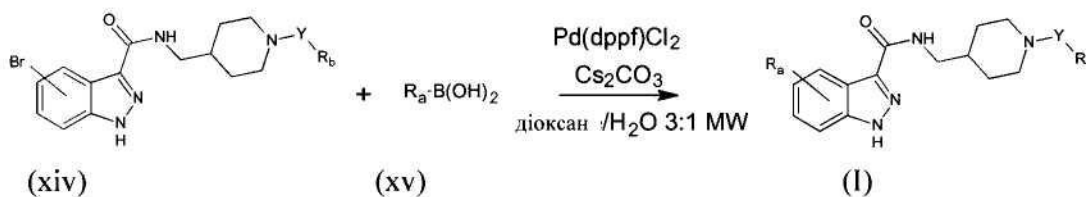
Спосіб CПерша стадія:

Тіоніл-хлорид (SOCl_2 ; 9,3 мл; 0,128 моль) додають до суспензії підходящої заміщеної 1H-індазол-3-карбонової кислоти (сполука i; 2,36 г; 0,0123 моль) у толуолі (77 мл), та зазначену реакційну суміш нагрівають при зрошенні впродовж 4 годин. Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску та залишок двічі поглинають толуолом, що приводить до одержання 2,13 г бажаного продукту (xiii) 2,10-заміщеного 7H, 14H-піразино[1,2-b:4,5-b']ді-індазол-7,14-діону.

Друга стадія:

До суспензії сполуки (xiii) (5,2 ммоль) у толуолі (40 мл) краплинним способом додають розчин підходящого аміну (ii; 2,1 екв.) та триетиламін (TEA; 3,6 екв.; 2,6 мл). Зазначену реакційну суміш нагрівають при зрошенні впродовж 8 годин, потім охолоджують та перемішують у 2н HCl (20 мл) впродовж 8 годин. Цю суспензію переносять у ділильну лійку та водну фазу відділяють та роблять лужною за допомогою 1н NaOH.

Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску, та продукт (I) очищують як описано нижче.

Спосіб D

Розчин продукту (xiv), зручно заміщеної арилборної кислоти (сполука xv), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлор-паладій(II) $[\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2]$, карбонат цезію у 1,4-діоксані та воді (співвідношення 3:1) піддають мікрохвильовому опроміненню.

Програмні установки є наступними:

- 3'; $T_1=160^\circ\text{C}$, $T_2=130^\circ\text{C}$; максимальна потужність 300 Вт
- 45'; $T_1=160^\circ\text{C}$, $T_2=130^\circ\text{C}$; максимальна потужність 300 Вт
- 5'; $T_1=20^\circ\text{C}$, $T_2=15^\circ\text{C}$.

Після одного циклу мікрохвильового випромінювання, розчинники видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску та зазначену реакційну суміш розводять за допомогою розчину хлороформу та метанолу у співвідношенні 2:1 та фільтрують.

Отримані таким чином продукти (I) очищують як описано нижче.

Способи очищення

Сполуки формули (I), отримані у відповідності з одним із попередньо розкритих способів A-D, можуть бути очищені за однією з наступних технологій (a) - (c).

5 (a) Флеш хроматографія на силікагелі.

Флеш хроматографію проводять на системі Biotage Flash Master Personal на 20-45 мкм кремнеземовому картриджі або Grace Reveleris флеш хроматографічній системі з 40 мкм кремнеземовим картриджем.

Потік = 60 мл/хвил.

10 Розчинники, використовувані як елюенти, являють собою метанол та хлороформ.

(b) Кристалізація

Різні кристалізаційні розчинники використовують в залежності від сполуки, що очищують. Розчинники представлені у наступній Таблиці 2.

(c) Препаративна PX/MC система.

15 PX/MC система складається з Waters 2767 Sample manager, Waters 2478 dual λ absorbance detector та Waters Micromass ZQ одно квадрупольного мас-спектрометра з джерелом (ESI) електророспилювальної іонізації. Використовувана колонка являє собою X-Bridge Prep C18 5 мкм з 19 \times 10мм (Waters) попередньою колонкою. Збір фракцій проводять за допомогою системи програмного забезпечення MassLynx™ v. 4.1. Довжину хвилі детектування встановлюють 230 нм та температуру до 25 °C.

Зразок розчиняють (50 мг/мл) у ДМСО/CH₃CN у 1:1 співвідношенні. Рухома фаза наступна:

канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти (Елюент A)

канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти (Елюент B)

потік = 40 мл/хвил.

25 градієнт = мінімальний та максимальний відсоток елюенту A, що досягається у 15 хвилинні інтервали, показаний у наступній Таблиці 2.

У наступній Таблиці 2 показані як спосіб одержання, так і спосіб очищення для кожної сполуки формули (I), як перераховано у Таблиці 1, та маса моноізоотопу для кожної сполуки.

Таблица 2

N°	Одержання спосіб	Спосіб очищення	Параметри або розчинник, що використовують для очищення	ММ знайдено [M+H ⁺]	ММ розраховано [M+H ⁺]
1	B	(b)	AcOEt	347,1677	347,1729
2	B	(b)	EtOH/AcOEt	347,2080	347,2083
3	B	(b)	EtOH абс./AcOEt	361,1856	361,1876
4	D	(c)	2 – 40	394,2241	394,2238
5	D	(c)	2 – 40	424,2350	424,2343
6	D	(c)	10 – 45	411,2196	411,2191
7	D	(c)	2 – 27	408,2397	408,2394
8	D	(c)	15 – 50	429,2105	429,2097
9	D	(c)	10 – 45	393,2290	393,2285
10	D	(c)	10 – 45	424,2350	424,2343
11	D	(c)	10 – 34	409,2247	409,2234
12	D	(c)	15 – 43	423,2400	423,2391
13	D	(c)	20 – 55	407,2449	407,2442
14	D	(c)	10 – 34	424,2340	424,2343
15	D	(c)	10 – 34	424,2343	424,2343
16	D	(c)	20-55	407,2453	407,2447
17	D	(c)	10-34	437,2190	437,2189
18	D	(c)	20-55	473,2360	473,2364
19	A	(b)	ТГФ/H ₂ O	395,1064	395,1077

30

ММ: маса моноізоотопу

AcOEt: етилацетат

EtOH: етанол

EtOH абс.: абсолютний етанол

ТГФ: тетрагідрофуран

H₂O: вода

Таблиця 3

N°	¹ H-ЯМР піки
1	ДМСО-d ₆ ; δ 13,95 (br. s., 2H), 8,24 (t, J=6,06 Гц, 1H), 7,38-7,62 (m, 2H), 6,86-7,13 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,18 (t, J=6,16 Гц, 2H), 2,94 (d, J=11,10 Гц, 2H), 2,74 (s, 2H), 1,99 (t, J=10,90 Гц, 2H), 1,45-1,66 (m, 3H), 1,11-1,35 (m, 2H)
2	ДМСО-d ₆ ; δ 13,41 (br. s., 1H), 8,25 (t, J=6,07 Гц, 1H), 7,56 (d, J=2,50 Гц, 1H), 7,51 (d, J=9,06 Гц, 1H), 7,06 (dd, J=2,50, 9,05 Гц, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,41 (t, J=5,97 Гц, 2H), 3,23 (s, 3H), 3,19 (t, J=6,26 Гц, 2H), 2,85 (d, J=11,56 Гц, 2H), 2,43 (t, J=5,97 Гц, 2H), 1,79-2,06 (m, 2H), 1,48-1,73 (m, 3H), 0,99-1,39 (m, 2H)
3	ДМСО-d ₆ ; δ 8,24 (t, J=6,04 Гц, 1H), 7,46-7,61 (m, 2H), 7,03 (dd, J=2,60, 8,70 Гц, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,18 (t, J=6,31 Гц, 2H), 2,83 (d, J=11,25 Гц, 2H), 2,40-2,48 (m, 2H), 2,05-2,16 (m, 2H), 1,78-1,94 (m, 2H), 1,49-1,68 (m, 3H), 1,12-1,29 (m, 2H)
4	ДМСО-d ₆ ; δ 13,71 (br. s., 1H), 8,90 (dd, J=0,82, 2,47 Гц, 1H), 8,58 (dd, J=1,56, 4,67 Гц, 1H), 8,42-8,44 (m, 1H), 8,40 (t, J=6,00 Гц, 1H), 8,09 (ddd, J=1,65, 2,42, 8,00 Гц, 1H), 7,70-7,81 (m, 2H), 7,51 (ddd, J=0,82, 4,76, 7,96 Гц, 1H), 3,37-3,44 (m, 2H), 3,14-3,24 (m, J=5,90, 5,90 Гц, 5H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,43 (t, J=6,04 Гц, 2H), 1,82-1,99 (m, 2H), 1,47-1,74 (m, 3H), 1,09-1,29 (m, 2H)
5	ДМСО-d ₆ ; δ 13,66 (br. s., 1H), 8,47 (d, J=5,85 Гц, 1H), 8,33-8,42 (m, 2H), 8,24 (dd, J=0,91, 1,65 Гц, 1H), 7,66 (dd, J=0,91, 8,60 Гц, 1H), 7,53 (dd, J=1,65, 8,60 Гц, 1H), 7,19 (d, J=5,67 Гц, 1H), 3,48 (s, 3H), 3,38-3,45 (m, 2H), 3,15-3,25 (m, 5H), 2,88 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,48 (t, J=6,00 Гц, 2H), 1,98 (t, J=10,89 Гц, 2H), 1,47-1,73 (m, 3H), 1,09-1,31 (m, 2H)
6	ДМСО-d ₆ ; δ 13,55 (s, 1H), 8,25-8,40 (m, 2H), 7,70 (dd, J=0,73, 8,78 Гц, 1H), 7,50-7,63 (m, 2H), 7,38-7,49 (m, 1H), 7,28-7,38 (m, 2H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,12-3,25 (m, J=6,60 Гц, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=6,04 Гц, 2H), 1,82-1,99 (m, 2H), 1,46-1,72 (m, 3H), 1,06-1,28 (m, 2H)
7	ДМСО-d ₆ ; δ 13,68 (br. s., 1H), 8,77 (d, J=1,83 Гц, 1H), 8,32-8,43 (m, 2H), 7,98 (dd, J=2,47, 7,96 Гц, 1H), 7,73 (d, J=1,28 Гц, 2H), 7,37 (d, J=8,05 Гц, 1H), 3,41 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,23 (s, 5H), 2,85 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,43 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,79-2,01 (m, 2H), 1,44-1,74 (m, 3H), 1,07-1,33 (m, 2H)
8	ДМСО-d ₆ ; δ 13,09 (s, 1H), 8,23-8,42 (m, 2H), 7,72 (dd, J=0,82, 8,69 Гц, 1H), 7,55 (td, J=1,76, 8,74 Гц, 1H), 7,24-7,49 (m, 3H), 3,40 (t, J=6,04 Гц, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,18 (d, J=6,40 Гц, 2H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,42 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,82-2,02 (m, 2H), 1,41-1,71 (m, 3H), 1,06-1,31 (m, 2H)
9	ДМСО-d ₆ ; δ 13,65 (br. s., 1H), 8,40 (t, J=1,28 Гц, 1H), 8,36 (t, J=6,13 Гц, 1H), 7,65-7,75 (m, 4H), 7,44-7,53 (m, 2H), 7,32-7,41 (m, 1H), 3,40 (t, J=6,04 Гц, 2H), 3,12-3,27 (m, J=6,00, 6,00 Гц, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=6,04 Гц, 2H), 1,83-1,97 (m, 2H), 1,49-1,71 (m, 3H), 1,09-1,31 (m, 2H)
10	ДМСО-d ₆ ; δ 13,71 (br. s., 1H), 8,49 (d, J=1,65 Гц, 1H), 8,43 (dd, J=0,91, 1,65 Гц, 1H), 8,40 (t, J=6,13 Гц, 1H), 8,30 (d, J=2,74 Гц, 1H), 7,78 (dd, J=1,60, 8,70 Гц, 1H), 7,73 (dd, J=0,90, 8,70 Гц, 1H), 7,62 (dd, J=1,83, 2,74 Гц, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,40 (t, J=6,04 Гц, 2H), 3,10-3,26 (m, 5H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,43 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,82-2,00 (m, 2H), 1,44-1,73 (m, 3H), 1,05-1,31 (m, 2H)
11	ДМСО-d ₆ ; δ 13,53 (br. s., 1H), 9,52 (br. s., 1H), 8,32 (t, J=6,13 Гц, 1H), 8,29 (t, J=1,28 Гц, 1H), 7,63 (d, J=1,28 Гц, 2H), 7,49 (d, J=8,78 Гц, 2H), 6,87 (d, J=8,60 Гц, 2H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,15-3,21 (m, 2H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,42 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,91 (t, J=10,61 Гц, 2H), 1,43-1,72 (m, 3H), 1,03-1,33 (m, 2H)
12	ДМСО-d ₆ ; δ 13,20 (s, 1H), 8,18-8,40 (m, 2H), 7,49-7,73 (m, 4H), 6,88-7,10 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,79-2,01 (m, 2H), 1,43-1,74 (m, 3H), 1,09-1,29 (m, 2H)
13	ДМСО-d ₆ ; δ 13,62 (br. s., 1H), 8,29-8,41 (m, 2H), 7,63-7,74 (m, 2H), 7,57 (d, J=8,05 Гц, 2H), 7,29 (d, J=7,87 Гц, 2H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=5,95 Гц, 2H), 2,36 (s, 3H), 1,80-2,02 (m, 2H), 1,43-1,70 (m, 3H), 1,05-1,31 (m, 2H)
14	ДМСО-d ₆ ; δ 8,24-8,38 (m, 2H), 8,18 (dd, J=1,83, 4,94 Гц, 1H), 7,76 (dd, J=1,83, 7,32 Гц, 1H), 7,62-7,69 (m, 1H), 7,46-7,58 (m, 1H), 7,11 (dd, J=4,94, 7,14 Гц, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,42 (t, J=6,04 Гц, 2H), 1,82-1,97 (m, 2H), 1,47-1,72 (m, 3H), 1,06-1,29 (m, 2H)

Таблиця 3

N°	¹ H-ЯМР піки
15	ДМСО-d ₆ ; δ 13,36 (s, 1H), 8,47 (dd, J=0,73, 2,56 Гц, 1H), 8,26-8,37 (m, 2H), 8,01 (dd, J=2,60, 8,60 Гц, 1H), 7,70 (dd, J=1,00, 8,80 Гц, 1H), 7,65 (dd, J=1,80, 8,80 Гц, 1H), 6,93 (dd, J=0,73, 8,60 Гц, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,40 (t, J=6,04 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=6,04 Гц, 2H), 1,80-2,01 (m, 2H), 1,47-1,74 (m, 3H), 1,02-1,35 (m, 2H)
16	ДМСО-d ₆ ; δ 13,59 (s, 1H), 8,34 (t, J=6,13 Гц, 1H), 8,06 (dd, J=1,56, 0,82 Гц, 1H), 7,65 (dd, J=0,73, 8,60 Гц, 1H), 7,39 (dd, J=1,65, 8,60 Гц, 1H), 7,35-7,20 (m, 1H), 3,40 (t, J=5,95 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,53 Гц, 2H), 2,42 (t, J=6,04 Гц, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,90 (t, J=10,61 Гц, 2H), 1,50-1,70 (m, 3H), 1,10-1,30 (m, 2H)
17	ДМСО-d ₆ ; δ 13,72 (br.s, 1H), 8,49-8,29 (m, 1H), 8,33 (t, J=6,04 Гц, 1H), 7,83-8,03 (m, 2H), 7,78-7,62 (m, 2H), 7,51-7,61 (m, 2H), 3,41 (t, J=6,04 Гц, 2H), 3,22 (s, 5H), 2,84 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,43 (t, J=5,95 Гц, 2H), 1,91 (t, J=10,70 Гц, 2H), 1,71-1,53 (m, 3H), 1,31-1,11 (m, 2H)
18	ДМСО-d ₆ ; δ 13,56 (s, 1H), 8,36-8,16 (m, 2H), 7,72-7,52 (m, 1H), 7,50 (dd, J=8,78, 1,65 Гц, 1H), 7,41 (dd, J=11,53, 9,33 Гц, 1H), 7,25 (dd, J=12,99, 7,14 Гц, 1H), 4,05 (q, J=6,95 Гц, 2H), 3,40 (t, J=5,095 Гц, 2H), 3,29-3,09 (m, 5H), 2,83 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,42 (t, J=5,95 Гц, 2H), 2,00-1,80 (m, 2H), 1,70-1,50 (m, 3H), 1,24 (s, 5H)
19	ДМСО-d ₆ ; δ 13,74 (br. s., 1H), 8,42 (t, J=6,07 Гц, 1H), 8,31 (dd, J=1,83, 0,67 Гц, 1H), 7,61 (dd, J=8,70, 0,70 Гц, 1H), 7,53 (dd, J=8,70, 1,70 Гц, 1H), 3,41 (t, J=5,97 Гц, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,13-3,21 (m, 2H), 2,78-2,94 (m, 2H), 2,30-2,47 (m, 2H), 1,82-2,09 (m, 2H), 1,39-1,77 (m, 3H), 1,08-1,30 (m, 2H)

ДМСО: диметилсульфоксид

Сполуки 20-44 одержують як описано у цьому описі нижче.

Синтез сполуки 20 - Етил [4-({[(5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}-метил)піперидин-1-іл]ацетат

20a) Етил [4-(амінометил)піперидин-1-іл]ацетат

До перемішуваного розчину N-[фенілметиліден]-1-(піперидин-4-іл)метанаміну (22 г, 0,109 моль (отриманого як описано у WO2004/101548) у абсолютному етанолі (150 мл) додають етил бромацетат (12 мл, 0,109 моль) та карбонат калію (33 г, 0,24 моль). Цей розчин нагрівають при зрошенні впродовж 8 годин, потім охолоджують та концентрують шляхом випарювання розчиннику при зниженому тиску. Зазначену реакційну суміш розводять за допомогою 3N HCl (150 мл) та перемішують при кімнатній температурі впродовж 2 годин. Кислий розчин потім промивають етилацетатом та роблять лужним шляхом додавання Na₂CO₃. Водну фазу екстрагують трьома порціями дихлорметану, які знову об'єднують та сушать над Na₂SO₄. Розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску та отриманий продукт етил [4-(амінометил)піперидин-1-іл]ацетат 20a використовують як такий без будь-якого додаткового очищення.

MS: 201 m/z (M+H⁺).

1-Гідроксибензотриазол (HOBt, 2,43 г, 14,2 ммоль) та N, N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC, 2,93 г, 14,2 ммоль) додають до розчину 5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-карбонової кислоти (3,5 г, 12,9 ммоль) у ДМФА (40 мл) при 0 °C. Через 1 годину, розчин сполуки 20a (2,6 г, 12,9 ммоль) у ДМФА (25 мл) додають при цій же температурі. Зазначену суміш перемішують при 0 °C впродовж 2 годин залишають досягти кімнатної температури впродовж ночі. Зазначену суміш розводять за допомогою EtOAc та тверду речовину видаляють фільтруванням. Цей розчин екстрагують три рази соляною кислотою (HCl) 2N. pH кислотної фази підвищують (приблизно 13) за допомогою 5N NaOH та цей розчин екстрагують три рази за допомогою дихлорметану (ДХМ). Органічну фазу сушать над безводним Na₂SO₄ та розчинник відфільтровують та випарюють при зниженому тиску, забезпечуючи одержання 1,6 г (3,5 ммоль, 27 % вихід) етил [4-({[(5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]ацетату (сполука 20).

¹H ЯМР (300МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,46 (br. s., 1H), 8,35 (t, J=6,2 Гц, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 4,07 (q, J=7,3 Гц, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,16 (s, 4H), 2,81 (d, J=11,0 Гц, 2H), 2,19-2,03 (m, 2H), 1,70-1,44 (m, 3H), 1,31-1,04 (m, 5H)

MS: 453 m/z (M+H⁺)⁺.

Синтез сполуки 21 - {4-({[(6-метокси-5-(піридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл)карбоніл]-аміно}метил)піперидин-1-іл}оцтової кислоти форміату гідрат

Розчин сполуки 20 (200 мг, 0,44 ммоль), піридин-3-ілборонової кислоти (217 мг, 1,77 ммоль), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлор-паладій(II) [Pd(dppf)Cl₂] (81 мг, 0,11 ммоль) та карбонат цезію (575 мг, 1,76 ммоль) у 1,4-діоксані та воді (співвідношення 3:1, 8 мл) піддають

мікрохвильовому опроміненню як описано нижче:

Період часу = 3"; $T_1=160\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_2=130\text{ }^{\circ}\text{C}$; максимальна потужність 300 Вт

Період часу = 45"; $T_1=160\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_2=130\text{ }^{\circ}\text{C}$; максимальна потужність 300 Вт

Період часу = 5"; $T_1=20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_2=15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Після одного циклу мікрохвильового випромінювання, розчинники видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску та зазначену реакційну суміш розводять за допомогою розчину метанолу (20 мл), фільтрують над целітом та сушать під вакуумом. Сирий продукт відфільтровують на кремнеземовому картриджі та промивають хлороформом та метанолом у співвідношенні 1:1. Отриману тверду речовину розчиняють у ДМСО та очищують за допомогою препаративної ВЕРХ (канал $A=\text{CH}_3\text{CN}+0,1\%$ мурашиної кислоти; канал $B=\text{H}_2\text{O}+0,1\%$ мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 2 % - 40 % елюенту А за 15 хвилин), забезпечуючи одержання {4-[[[6-метокси-5-(піридин-3-іл)-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти форміату гідрату 21 (67 мг, 36 % вихід).

^1H ЯМР (300МГц, ДМСО- d_6) δ = 13,44 (br. s., 1H), 8,66 (dd, $J=0,9$, 2,4 Гц, 1H), 8,54 (dd, $J=1,8$, 4,8 Гц, 1H), 8,42 (t, $J=6,2$ Гц, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,91-7,85 (m, 1H), 7,45 (ddd, $J=0,9$, 4,8, 7,8 Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,41 (br. s., 1H), 3,30-3,00 (m, 6H), 2,54 (s, 2H), 1,73 (d, $J=11,0$ Гц, 3H), 1,52-1,28 (m, 2H)

MS: 424 m/z ($M+H$)⁺.

Синтез сполуки 22 - {4-[[[6-метокси-5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат

{4-[[[6-метокси-5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]-піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат 22 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, виходячи з (5-метоксипіридин-3-іл)боронової кислоти та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал $A=\text{CH}_3\text{CN}+0,1\%$ мурашиної кислоти; канал $B=\text{H}_2\text{O}+0,1\%$ мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 10 % - 45 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 33 мг, 17 %.

^1H ЯМР (300МГц, ДМСО- d_6) δ = 13,46 (br. s., 1H), 8,42 (t, $J=6,0$ Гц, 1H), 8,26 (dd, $J=2,0$, 6,8 Гц, 2H), 8,02 (s, 1H), 7,43 (dd, $J=1,6$, 2,7 Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,98 (br. s., 1H), 3,30-3,01 (m, 6H), 2,66-2,53 (m, 2H), 1,73 (d, $J=10,6$ Гц, 3H), 1,40 (q, $J=11,6$ Гц, 2H)

MS: 454 m/z ($M+H$)⁺.

Синтез сполуки 23 - {4-[[[5-(2,3-дифторфеніл)-6-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат

{4-[[[5-(2,3-дифторфеніл)-6-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]-метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат 23 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, виходячи з (2,3-дифторфеніл)боронової кислоти та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал $A=\text{CH}_3\text{CN}+0,1\%$ мурашиної кислоти; канал $B=\text{H}_2\text{O}+0,1\%$ мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 15 % - 50 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 48 мг, 24 %.

^1H ЯМР (300МГц, ДМСО- d_6) δ = 13,50 (br. s., 1H), 8,42 (t, $J=6,0$ Гц, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,53-7,36 (m, 1H), 7,33-7,16 (m, 2H), 7,13 (s, 1H), 4,13 (br. s., 1H), 3,84 (s, 3H), 3,30-3,08 (m, 6H), 2,65-2,53 (m, 2H), 1,72 (d, $J=11,0$ Гц, 3H), 1,40 (q, $J=11,7$ Гц, 2H)

MS: 459 m/z ($M+H$)⁺.

Синтез сполуки 24-4-[4-[[[5-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]-піперидин-1-іл]бутанова кислота

24а) Трет-бутил 4-[[[5-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-карбоксилат

Трет-бутил4-[[[5-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-карбоксилат 24а отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 20, з 5-метокси-1Н-індазол-3-карбонової кислоти та трет-бутил 4-(амінометил)піперидин-1-карбоксилату. Вихід: 35,2 г, 96 %.

MS: 389 m/z ($M+H$)⁺.

24b)5-Метокси-N-(піперидин-4-ілметил)-1Н-індазол-3-карбоксаміду гідрохлорид

2 М HCl у Et₂O (1,8 л) додають до розчину сполуки 24а (92,8 г, 0,24 моль) у MeOH (500 мл). Зазначену суміш перемішують впродовж 3 годин при кімнатній температурі, потім отриману тверду речовину відфільтровують та сушать, що приводить до одержання 5-метокси-N-(піперидин-4-ілметил)-1Н-індазол-3-карбоксаміду гідрохлориду 24b (61,1 г, 89 % вихід).

MS: 289 m/z ($M+H$)⁺.

24с) Етил 4-[4-[[[5-метокси-1Н-індазол-3-іл]карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-іл]бутаноат

Суміш сполуки 24b (8 г, 24,6 ммоль) та карбонату калію (17 г, 123 ммоль) у ацетоні (250 мл) нагрівають при зрошенні впродовж 1 години, потім краплинним способом додають етил 4-

хлорбутаноат (3,62 мл, 25,9 ммоль). Зазначену суміш нагрівають при зрошенні впродовж ночі, потім охолоджують та фільтрують. Отриману тверду речовину сушать та очищують за допомогою препаративної ВЕРХ (канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 10 % - 45 % елюенту А за 15 хвилин), забезпечуючи одержання 0,9 г (9 % вихід) етил 4-[4-(((5-метокси-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]бутаноату 24с.

MS: 403 m/z (M+H)⁺.

До розчину сполуки 24с (744 мг, 1,85 ммоль) у MeOH (10 мл) додають водний розчин NaOH (1 М, 3,7 мл). Цей розчин нагрівають при зрошенні впродовж ночі, потім органічний розчинник видаляють під вакуумом, залишок розводять за допомогою H₂O та рН доводять до 5 шляхом додавання 1 М HCl. Зазначену суміш тримають при 4 °С впродовж ночі, потім отриману тверду речовину відфільтровують, промивають свіжою водою та сушать під вакуумом, що приводить до одержання 4-[4-(((5-метокси-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]бутанової кислоти 24 (72 мг, 10 % вихід).

¹H ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ = 13,54 (br. s., 1H), 11,25 (br. s., 1H), 8,46 (t, J=6,1 Гц, 1H), 7,55 (d, J=2,3 Гц, 1H), 7,52 (d, J=8,9 Гц, 1H), 7,05 (dd, J=2,3, 8,9 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,37 (d, J=12,2 Гц, 2H), 3,23 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,00-2,89 (m, 2H), 2,81 (t, J=11,4 Гц, 2H), 2,32 (t, J=7,1 Гц, 2H), 2,01-1,70 (m, 5H), 1,64-1,41 (m, 2H)

MS: 375 m/z (M+H)⁺.

Синтез сполуки 25 - 4-[4-(((5-(Піримідин-5-іл)-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтової кислоти гідрат

25a) Трет-бутил 4-(((5-бром-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-карбоксилат

Трет-бутил 4-(((5-бром-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-карбоксилат 25a

отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 20, з 5-бром-1Н-індазол-3-карбонової кислоти та трет-бутил 4-(амінометил)піперидин-1-карбоксилату. Вихід: 40,6 г, 87 %

MS: 437 m/z (M+H)⁺.

25b) 5-Бром-N-(піперидин-4-ілметил)-1Н-індазол-3-карбоксаміду гідрохлорид

5-Бром-N-(піперидин-4-ілметил)-1Н-індазол-3-карбоксаміду гідрохлорид 25b отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 24b, виходячи зі сполуки 25a. Вихід: 23,8 г, 76 %.

MS: 337 m/z (M+H)⁺.

25с) Етил 4-[4-(((5-бром-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]ацетат

Суміш сполуки 25b (2 г, 5,4 ммоль) та карбонату калію (2,3 г, 16,6 ммоль) у ДМФА (45 мл) перемішують впродовж 1 години при 70 °С. Розчин етил бромацетату (0,89 мл, 8 ммоль) у ДМФА (5 мл) додають краплинним способом. Через 3 години при 70 °С зазначену реакційну суміш охолоджують, розбавляють водою та екстрагують три рази за допомогою EtOAc. Об'єднані органічні фази сушать над Na₂SO₄ та концентрують під вакуумом. Сирий продукт очищують шляхом флеш хроматографії (кремнезем, CHCl₃:MeOH 95:5), забезпечуючи одержання 710 мг (31 % вихід) етил 4-[4-(((5-бром-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]ацетату 25с.

¹H ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ = 13,74 (s, 1H), 8,43 (t, J=6,0 Гц, 1H), 8,32 (dd, J=0,6, 1,9 Гц, 1H), 7,61 (dd, J=0,6, 8,9 Гц, 1H), 7,53 (dd, J=1,9, 8,9 Гц, 1H), 4,07 (q, J=7,1 Гц, 2H), 3,20 (t, J=6,4 Гц, 2H), 3,17 (s, 2H), 2,81 (d, J=11,2 Гц, 2H), 2,22-2,03 (m, 2H), 1,72-1,46 (m, 3H), 1,31-1,08 (m, 5H).

MS: 423 m/z (M+H)⁺.

4-[4-(((5-(Піримідин-5-іл)-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтової кислоти гідрат 25 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, зі сполуки 25с та піримідин-5-ілборонової кислоти. Продукт очищують шляхом кристалізації у MeOH. Вихід: 43 мг, 18 %.

¹H ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ = 13,90 (br. s., 1H), 9,20 (s, 1H), 9,15 (s, 2H), 8,54 (t, J=6,0 Гц, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,00-7,56 (m, 2H), 4,63 (br. s., 1H), 3,45-3,01 (m, 6H), 2,60 (t, J=11,3 Гц, 2H), 1,76 (d, J=11,3 Гц, 3H), 1,44 (q, J=11,3 Гц, 2H)

MS: 395 m/z (M+H)⁺.

Синтез сполуки 26 - 4-[4-(((5-(3,5-Диметилізоксазол-4-іл)-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтової кислоти гідрат

4-[4-(((5-(3,5-Диметилізоксазол-4-іл)-1Н-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтової кислоти гідрат 26 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, зі сполуки 25с та (3,5-диметилізоксазол-4-іл)боронової кислоти. Продукт очищують шляхом кристалізації у MeOH. Вихід: 55 мг, 23 %.

¹H ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ = 13,84 (br. s., 1H), 8,50 (t, J=5,9 Гц, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,72 (d,

J=8,6 Гц, 1H), 7,40 (dd, J=1,5, 8,8 Гц, 1H), 4,10 (br. s., 1H), 3,36-3,03 (m, 6H), 2,60 (t, J=11,2 Гц, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,75 (d, J=11,2 Гц, 3H), 1,42 (q, J=11,4 Гц, 2H)

MS: 412 m/z (M+H)⁺.

Синтез сполуки 27 - {4-[[[5-(2,3-дихлорфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат

{4-[[[5-(2,3-Дихлорфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат 27 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, зі сполуки 25с та (2,3-дихлорфеніл)боронової кислоти та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 20 % - 55 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 42 мг, 15 %.

¹H ЯМР (300МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,81 (br. s., 1H), 8,50 (t, J=6,0 Гц, 1H), 8,17 (dd, J=0,9, 1,6 Гц, 1H), 7,78-7,60 (m, 2H), 7,54-7,34 (m, 3H), 4,08 (br. s., 1H), 3,38-2,96 (m, 6H), 2,58 (t, J=11,0 Гц, 2H), 1,74 (d, J=11,0 Гц, 3H), 1,42 (q, J=11,6 Гц, 2H)

MS: 461 m/z (M+H)⁺.

Синтез сполуки 28 - {4-[[[5-(3-Фторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат

{4-[[[5-(3-Фторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат 28 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, зі сполуки 25с та (3-фторфеніл)боронової кислоти та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 15 % - 50 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 87 мг, 36 %.

¹H ЯМР (300МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,71 (br. s., 1H), 8,45 (t, J=6,0 Гц, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,86-7,66 (m, 2H), 7,63-7,41 (m, 3H), 7,19 (dddd, J=2,4, 2,6, 6,5, 9,0 Гц, 1H), 4,75 (br. s., 1H), 3,34-3,07 (m, 6H), 2,64-2,53 (m, 2H), 1,75 (d, J=11,0 Гц, 3H), 1,42 (q, J=11,5 Гц, 2H)

MS: 411 m/z (M+H)⁺.

Синтез сполуки 29 - {4-[[[5-(2,3-дифторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтова кислота

{4-[[[5-(2,3-дифторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтову кислоту 29 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, виходячи зі сполуки 25с та (2,3-дифторфеніл)боронової кислота та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = від 15 до 50 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 20 мг, (11,7 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,68 (br. s., 1H), 8,51 (t, J=6,1 Гц, 1H), 8,35 (d, J=0,6 Гц, 1H), 7,74 (dd, J=0,7, 8,8 Гц, 1H), 7,61 (td, J=1,7, 8,7 Гц, 1H), 7,51-7,25 (m, 3H), 3,33-3,10 (m, 6H), 2,64-2,53 (m, 2H), 1,74 (d, J=10,5 Гц, 3H), 1,54-1,29 (m, 2H)

Синтез сполуки 30 - {4-[[[5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтова кислота

{4-[[[5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтову кислоту 30 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 21, виходячи зі сполуки 25с та (5-метоксипіридин-3-іл)боронової кислоти та використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри для очищення: канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = від 2 до 40 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід: 47 мг (27,8 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,73 (br. s., 1H), 8,54-8,49 (m, 1H), 8,48 (d, J=1,6 Гц, 1H), 8,44-8,39 (m, 1H), 8,30 (d, J=2,7 Гц, 1H), 7,81-7,76 (m, 1H), 7,76-7,69 (m, J=0,7 Гц, 1H), 7,61 (dd, J=1,8, 2,7 Гц, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,29-3,12 (m, 6H), 2,69-2,55 (m, 2H), 1,75 (d, J=11,0 Гц, 3H), 1,58-1,27 (m, 2H)

Синтез сполуки 31 - [4-[[[5-(етил-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно]метил]піперидин-1-іл]оцтова кислота.

Суміш продукту 25с (170 мг, 0,4 ммоль), вініл-боронової кислоти пінаколінового складного ефіру (0,53 ммоль), [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]-дихлор-паладію (II) (50 мг, 0,06 ммоль), насиченого розчину карбонату натрію (1,7 мл) у суміші толуол/етанол (співвідношення 1:1, 10 мл) нагрівають у мікрохвильовій печі при 150 °C, 500Вт впродовж 2 год. Після фільтрування через целіт, розчинники видаляють при зниженому тиску та сирий продукт елюють через силікагелевий картридж сумішшю хлороформ/метанол із співвідношенням 1:1. Розчинники видаляють при зниженому тиску та отриману сирю проміжну речовину розчиняють у етанолі (20 мг/мл) та гідрогенують на 10 % Pd/C картриджі при 30 °C, 1 мл/хвил. у Thales Nano H-CUBE гідрогенізатор, що забезпечує одержання [4-[[[5-етил-1H-індазол-3-

іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтової кислоти 31, що очищують використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри: канал A=CH₃CN+0,1 % мурашиної кислоти; канал B=H₂O+0,1 % мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 10-45 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід 170 мг, (41,0 %).

5 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,48 (br. s., 1H), 8,38 (t, J=6,1 Гц, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,52 (d, J=8,6 Гц, 1H), 7,28 (dd, J=1,6, 8,6 Гц, 1H), 4,38 (br. s., 1H), 3,33-3,09 (m, 6H), 2,73 (q, J=7,5 Гц, 2H), 2,65-2,53 (m, 2H), 1,83-1,60 (m, 3H), 1,54-1,31 (m, 2H), 1,23 (t, J=7,5 Гц, 3H)

Синтез сполуки 32 - {4-([5-(пропан-2-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)-метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота

10 {4-([5-(пропан-2-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]оцтову кислоту 32 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 31, виходячи із 1-метилетилеборонової кислоти пінаколінового складного ефіру. Вихід = 33 мг (7,7 %).

15 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,45 (br. s., 1H), 8,38 (t, J=6,1 Гц, 1H), 8,10-7,86 (m, 1H), 7,52 (dd, J=0,5, 8,6 Гц, 1H), 7,32 (dd, J=1,6, 8,8 Гц, 1H), 4,65 (br. s., 1H), 3,29-3,13 (m, 6H), 3,02 (квінт, J=6,8, 13,7 Гц, 1H), 2,57 (t, J=11,3 Гц, 2H), 1,73 (d, J=10,8 Гц, 3H), 1,55-1,32 (m, 2H), 1,26 (d, J=7,0 Гц, 6H)

Синтез сполуки 33 - {4-([5-(3,6-дигідро-2H-піран-4-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота

20 {4-([5-(3,6-дигідро-2H-піран-4-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]оцтову кислоту 33 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 31 (без стадії гідрогенування), виходячи з 4-метил-3,6-дигідро-2H-піраніл-боронової кислоти пінаколінового складного ефіру. Вихід = 150 мг (37,7 %).

25 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,65 (br. s., 1H), 8,44 (t, J=5,9 Гц, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,71-7,47 (m, 2H), 6,27 (br. s., 1H), 5,78-4,52 (m, 1H), 4,25 (d, J=2,2 Гц, 2H), 3,86 (t, J=5,3 Гц, 2H), 3,34-3,05 (m, 6H), 2,68-2,54 (m, 4H), 1,74 (d, J=10,9 Гц, 3H), 1,42 (q, J=11,5 Гц, 2H).

Синтез сполуки 34 - [4-([5-циклогексил-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)-метил)-піперидин-1-іл] оцтова кислота

30 [4-([5-циклогексил-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]оцтову кислоту 34 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 31, виходячи з циклогексеніл-боронової кислоти пінаколінового складного ефіру. Вихід = 158 мг (39,6 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,48 (br. s., 1H), 8,38 (t, J=6,0 Гц, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,51 (d, J=8,8 Гц, 1H), 7,30 (dd, J=1,2, 8,7 Гц, 1H), 4,67 (br. s., 1H), 3,24 (d, J=4,8 Гц, 6H), 2,68-2,53 (m, 3H), 1,96-1,58 (m, 8H), 1,54-1,14 (m, 7H)

35 Синтез сполуки 35 - [4-([5-пентил-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)-піперидин-1-іл]оцтова кислота

[4-([5-пентил-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]оцтову кислоту 35 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 31, виходячи з 5-пентил-боронової кислоти пінаколінового складного ефіру. Вихід = 176 мг (45,6 %).

40 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,49 (br. s., 1H), 8,38 (t, J=5,9 Гц, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,51 (dd, J=0,7, 8,6 Гц, 1H), 7,25 (dd, J=1,5, 8,8 Гц, 1H), 3,20 (s, 6H), 2,69 (t, J=7,4 Гц, 2H), 2,59 (t, J=11,1 Гц, 2H), 1,86-1,15 (m, 11H), 0,93-0,77 (m, 3H).

Синтез сполуки 36-5-метокси-N-[(1-{3-[(фенілкарбоніл]аміно]пропіл)піперидин-4-іл)метил]-1H-індазол-3-карбоксамід

45 36a) трет-бутил {3-[4-([5-метокси-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]пропіл}карбамат

Розчин сполуки 24b (1,37 г, 4,36 ммоль) у ДМФА (45 мл) та триетиламін (1,3 мл, 9,5 ммоль) перемішують при 80 °C впродовж 1 год. та потім обробляють за допомогою трет-бутил(3-бромпропіл)карбамату (1,7 г, 7,1 ммоль). Зазначену суміш перемішують впродовж ночі при цій же температурі. Реакційну суміш потім охолоджують до кімнатної температури та розчинник видаляють шляхом випарювання при зниженому тиску. Сирий трет-бутил {3-[4-([5-метокси-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]пропіл}-карбамат 36a використовують для наступної стадії без додаткових очищень.

РХ-МС: 446,3 (M+H)⁺.

36b) N-[(1-(3-амінопропіл)піперидин-4-іл)метил]-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід

55 Розчин сирого трет-бутил {3-[4-([5-метокси-1H-індазол-3-іл]карбоніл]аміно)метил)піперидин-1-іл]пропіл}карбамату 36a (приблизно 1,8 г) у CH₂Cl₂ (15 мл) обробляють за допомогою трифтороцтової кислоти (7 мл) при кімнатній температурі впродовж ночі. Цей розчин потім виливають у воду (50 мл) та промивають за допомогою CH₂Cl₂ (3 × 20 мл). Кислу фазу підлюжують та концентрують при зниженому тиску. Твердий залишок екстрагують сумішшю 60 CH₃Cl/CH₃OH у співвідношенні 8/2 (3 × 20 мл) та розчинник випарюють при зниженому тиску.

Сирий N-{{1-(3-амінопропіл)піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід 36b використовують на наступних стадіях без додаткових очищень.

РХ-МС: 346,2 (M+H)⁺.

До розчину сирого N-{{1-(3-амінопропіл)піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксаміду 36b (приблизно 350 мг, 1 ммоль) у ДМСО (1,5 мл) та CH₂Cl₂ (10 мл) додають бензоїл-хлорид (71 мкл, 0,61 ммоль). Цей розчин потім перемішують при кімнатній температурі впродовж 2 год. Зазначену суміш потім додають до води (20 мл) та екстрагують за допомогою CH₂Cl₂ (3 × 10 мл). Об'єднані органічні фази концентрують при зниженому тиску та сирий продукт очищують за допомогою флеш хроматографії на силікагелі, використовуючи суміш CHCl₃/CH₃OH=9:1 як елюент. Отримують 5-метокси-N-{{1-(3-[[фенілкарбоніл]-аміно]пропіл)піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід 36 (71 мг).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,43 (s, 1H), 8,59-8,47 (t, J=5,31 Гц, 1H), 8,38-8,24 (t, J=6,04 Гц, 1H), 7,90-7,74 (m, 2H), 7,61-7,35 (m, 5H), 7,10-6,99 (dd, J=9,15, 2,56 Гц, 1H), 3,89-3,69 (s, 3H), 3,39-3,12 (m, 6H), 3,11-2,94 (m, 2H), 2,25-1,89 (m, 2H), 1,83-1,53 (m, 5H), 1,36-1,12 (d, J=11,34 Гц, 2H)

РХ-МС: 450,25 (MH⁺)

Синтез сполуки 37-N-{{1-[3-(бутаноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід

N-{{1-[3-(бутаноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід 37 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 36, виходячи з бутаноїл-хлориду. Вихід = 75 мг (36,8 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,44 (s, 1H), 8,41-8,26 (t, J=6,11 Гц, 1H), 7,89-7,69 (t, J=5,12 Гц, 1H), 7,58-7,54 (d, J=2,31, 1H), 7,53-7,47 (dd, J=8,92, 0,66 Гц, 1H), 7,11-6,96 (dd, J=9,08, 2,48 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,52-2,77 (m, 10H), 2,10-1,92 (t, J=7,27 Гц, 2H), 1,81-1,12 (m, 9H), 0,91-0,77 (t, J=7,27, 3H)

РХ-МС: 416,27 (MH⁺)

Синтез сполуки 38-N-{{1-[3-[(2E)-бут-2-еноїламіно]пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід

N-{{1-[3-[(2E)-бут-2-еноїламіно]пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід 38 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 36, виходячи з (2E)-бут-2-еноїл-хлориду. Вихід = 45 мг (51,4 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,44 (s, 1H), 8,45-8,25 (m, 1H), 8,00-7,75 (m, 1H), 7,60-7,53 (d, J=2,40 Гц, 1H), 7,53-7,47 (d, J=8,90 Гц, 1H), 7,09-7,01 (dd, J=2,70, 2,30 Гц, 1H), 6,67-6,50 (m, 1H), 5,75-6,00 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,50-1,00 (m, 20H)

РХ-МС: 414,25 (M-H⁺)

Синтез сполуки 39-5-метокси-N-{{1-[3-(пропаноїл-аміно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід

5-метокси-N-{{1-[3-(пропаноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-1H-індазол-3-карбоксамід 39 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 36, виходячи з пропаноїл-хлориду. Вихід = 90 мг (68,8 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,28 (s, 1H), 8,17-8,00 (m, 1H), 7,65-7,55 (m, 1H), 7,58-7,54 (d, J=2,20 Гц, 1H), 7,52-7,45 (d, J=9,20 Гц, 1H), 7,10-7,00 (dd, J=9,15, 2,60 Гц, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,30-2,85 (m, 8H), 2,11-2,00 (q, J=7,70 Гц, 2H), 1,80-1,52 (m, 6H), 1,40-1,15 (m, 3H), 1,03-0,95 (t, J=7,70 Гц, 3H)

РХ-МС: 402,25 (M-H⁺)

Синтез сполуки 40-N-{{1-[3-(бут-2-иноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід

N-{{1-[3-(бут-2-иноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід 40 отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 36, виходячи з 2-бутиноїл-хлориду. Вихід = 17 мг (17,1 %).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ = 13,34 (s, 1H), 8,52-8,42 (t, J=5,31 Гц, 1H), 8,27-8,18 (t, J=6,04 Гц, 1H), 7,56-7,52 (d, J=2,20 Гц, 1H), 7,52-7,47 (d, J=8,78 Гц, 1H), 7,05-6,99 (dd, J=8,96, 2,38 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,21-3,13 (t, J=6,40 Гц, 2H), 3,11-3,01 (q, J=6,59 Гц, 2H), 2,87-2,75 (d, J=11,34 Гц, 2H), 2,30-2,18 (t, J=6,95 Гц, 2H), 1,94 (s, 3H), 1,88-1,73 (t, J=10,61 Гц, 2H), 1,70-1,45 (m, 5H), 1,30-1,10 (m, 2H)

РХ-МС: 412,23 (M-H⁺)

Синтез сполуки 41 - [4-{{(5-бром-6-гідрокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл}аміно}-метил]піперидин-1-іл]оцтова кислота

До розчину сполуки 20 (200 мг, 0,44 ммоль) у CH₂Cl₂ (15 мл), охолодженого до -78 °С, повільно додають розчин 1M BBr₃ у CH₂Cl₂ (2,2 мл, 2,2 ммоль) (приблизно 1 год.). Зазначену

суміш залишають досягти кімнатної температури та перемішують при цій температурі впродовж 2 днів. Зазначену суміш потім виливають у насичений розчин NaHCO_3 та екстрагують за допомогою CH_2Cl_2 (3×100 мл). Основну фазу підкислюють за допомогою 1 н. HCl та концентрують при зниженому тиску. Залишок потім обробляють за допомогою DMSO (6 мл) та

5 [4-(((5-бром-6-гідрокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)-метил]піперидин-1-іл]оцтову кислоту 41 очищують, використовуючи наступні препаративні ВЕРХ параметри: канал $\text{A}=\text{CH}_3\text{CN}+0,1\%$ мурашиної кислоти; канал $\text{B}=\text{H}_2\text{O}+0,1\%$ мурашиної кислоти: потік = 40 мл/хвил.; градієнт = 10-45 % елюенту А за 15 хвилин. Вихід 36 мг.

10 ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ = 13,27 (br. s., 1H), 12,53-8,62 (m, 0H), 8,39 (t, $J=6,0$ Гц, 1H), 8,27-8,14 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,74-3,42 (m, 2H), 3,34-3,07 (m, 6H), 2,62 (t, $J=11,2$ Гц, 2H), 1,74 (d, $J=11,0$ Гц, 3H), 1,42 (q, $J=11,7$ Гц, 2H)

Синтез сполуки 42 - [4-(((5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)-метил]піперидин-1-іл]оцтова кислота

15 [4-(((5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтову кислоту 42 отримують шляхом стадії очищення, описаної у одержанні сполуки 41. Вихід 35 мг.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ = 13,66 (br. s., 1H), 8,45 (t, $J=6,1$ Гц, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,80-4,69 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,33-3,10 (m, 6H), 2,64 (t, $J=11,2$ Гц, 2H), 1,75 (d, $J=10,9$ Гц, 3H), 1,43 (q, $J=11,6$ Гц, 2H)

20 Синтез сполуки 44 - етил [4-(((5-метокси-1H-індазол-3-іл)-карбоніл)аміно)-метил]піперидин-1-іл]ацетат

Етил [4-(((5-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]ацетат отримують у відповідності з процедурою, описаною для сполуки 25с, виходячи з 5-метокси-N-(піперидин-4-ілметил)-1H-індазол-3-карбоксаміду гідрохлориду 24b (65 %).

25 ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ = 13,54 (s, 1H), 8,30 (t, $J=6,06$ Гц, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,51 (d, $J=8,91$ Гц, 1H), 7,05 (d, $J=8,91$ Гц, 1H), 4,00 (q, $J=7,13$ Гц, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,34 (s, 2H), 3,17-3,24 (m, 2H), 2,81-2,95 (m, 4H), 1,50-1,75 (m, 3H), 1,16-1,36 (m, 2H), 1,11 (t, $J=7,13$ Гц, 3H)

РХ-МС: 375,2 (M-H⁺)

У наступній Таблиці 1А підсумовані хімічна назва та структура описаних вище сполук 20-44.

Таблиця 1А

	IUPAC назва	Структура
20	Етил [4-(((5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл)аміно)метил)-піперидин-1-іл]ацетат	
21	{4-[[[6-метокси-5-(піридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]оцтової кислоти форміату гідрат	

Таблиця 1А

	IUPAC назва	Структура
22	{4-[[{6-метокси-5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл}карбоніл]аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	
23	{4-[[{5-(2,3-дифторфеніл)-6-метокси-1H-індазол-3-іл}карбоніл]аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	
24	4-[4-({(5-метокси-1H-індазол-3-іл)-карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]-бутанова кислота	
24с	Етил 4-[4-({(5-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]бутаноат	
25	{4-[[{5-(Піримідин-5-іл)-1H-індазол-3-іл}карбоніл]аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	

Таблиця 1А

	IUPAC назва	Структура
25с	Етил [4-(((5-бром-1H-індазол-3-іл)-карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл]ацетат	
26	{4-[[[5-(3,5-Диметилізоксазол-4-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)метил]-піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	
27	{4-[[[5-(2,3-дихлорфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	
28	{4-[[[5-(3-фторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтової кислоти гідрат	
29	{4-[[[5-(2,3-дифторфеніл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)метил]піперидин-1-іл}оцтова кислота	
30	{4-[[[5-(5-метоксипіридин-3-іл)-1H-індазол-3-іл]карбоніл)аміно)-метил]піперидин-1-іл}оцтова кислота	

Таблиця 1А

	IUPAC назва	Структура
31	[4-({[(5-етил-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота	
32	{4-({[(5-(пропан-2-іл)-1H-індазол-3-іл)-карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]-оцтова кислота	
33	{4-({[(5-(3,6-дигідро-2H-піран-4-іл)-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл}оцтова кислота	
34	[4-({[(5-циклогексил-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота	
35	[4-({[(5-пентил-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота	
36	5-метокси-N-[(1-{3-[(фенілкарбоніл)аміно]пропіл}піперидин-4-іл)метил]-1H-індазол-3-карбоксамід	
37	N-({1-[3-(бутаноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл)метил}-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід	
38	N-[(1-{3-[(2E)-бут-2-еноїламіно]пропіл}піперидин-4-іл)метил]-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід	

Таблиця 1А

	IUPAC назва	Структура
39	5-метокси-N-({1-[3-(пропаноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил)-1H-індазол-3-карбоксамід	
40	N-({1-[3-(бут-2-иноїламіно)пропіл]піперидин-4-іл}метил)-5-метокси-1H-індазол-3-карбоксамід	
41	[4-({[(5-бром-6-гідрокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота	
42	[4-({[(5-бром-6-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]оцтова кислота	
44	етил [4-({[(5-метокси-1H-індазол-3-іл)карбоніл]аміно}метил)піперидин-1-іл]ацетат	

Фармакологічні властивості

Фармакологічні властивості сполук формули (I), корисних у даному винаході, оцінюють за способами, описаними у наступних розділах.

5 Випробування I - Активність на GSK-3β людини (випробування in vitro)

Активність на GSK-3β людини оцінюють, використовуючи наступні способи (відповідно до Meijer et al., Chem. Biol., 2003-10:1255-1266).

У першому скринінговому дослідженні, сполуки випробують у двох повторях при концентрації 10 мкМ.

10 Рекombінантний фермент GSK-3β людини інкубують впродовж 90 хвилин при 22 °C у присутності сполук або носія у реакційному буфері, що містить АТФ плюс 100 нМ нефосфорильований специфічний субстратний пептид (Ulight-CFFKNIVTPRTPPPSQGK-амід). Субстратне фосфорилування вимірюють за допомогою LANCE технології (PerkinElmer, CT, USA).

15 Результати, представлені у наступній Таблиці 4, виражають у вигляді відсотку інгібування контрольної специфічної активності, отриманої у присутності випробовуваної сполуки (як % інгібування при 10 мкМ).

20 У другому випробуванні, ті самі сполуки досліджують при п'яти концентраціях у інтервалі від 100 мкМ до 10 нМ з десятиразовими розведеннями у двох повторях. Сполуки 1-15 випробовують, використовуючи те саме перше випробування, сполуки 16-41 випробовують у іншому випробуванні на основі зв'язування та заміщення AlexaFluor® 647 міченого, АТФ-конкурентного кіназного інгібіторного каркасу, використовуючи LanthaScreen™ TR-FRET технологію Eu кіназний випробувальний пакет у відповідності до інструкцій виробника (Life Technologies, Italy). Результати двох випробувань є порівняними.

IC₅₀ значення (концентрація, що спричиняє половину максимального інгібування контрольної специфічної активності), представлені у Таблиці 4, визначають шляхом нелінійного регресійного аналізу кривих інгібування, створених з середніми значеннями повторів, використовуючи обробку кривої рівняння Хіла.

- 5 IC₅₀ значення (концентрація, що спричиняє половину максимального інгібування контрольної специфічної активності), представлені у Таблиці 4, визначають шляхом нелінійного регресійного аналізу кривих інгібування, створених з середніми значеннями повторів, використовуючи обробку кривої рівняння Хіла.

Таблиця 4

Сполука N°	% Інгібування [10 мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]
1	92	0,67
2	85	0,87
3	94	0,69
4	-	0,03
5	-	0,05
6	-	0,07
7	-	0,06
8	-	0,02
9	-	0,20
10	-	0,03
11	-	0,89
12	-	0,56
13	-	0,56
14	-	1,40
15	-	0,05
16	-	0,58
18	-	1,06
24	-	1,03
25	-	0,22
25b	-	0,53
26	-	0,91
27	-	0,10
28	-	0,11
29	-	0,03
30	-	0,02
31	-	0,96
32	-	3,91
33	-	1,04
34	-	1,07
35	-	2,04
36	-	3,42
37	-	0,97
38	-	0,78
39	-	0,95
40	-	0,88
41	71	-

10 Результати показали, що сполуки у відповідності з даним винаходом мають непогану інгібіторну активність у зазначеному випробуванні: при 10 мкМ % інгібування більше, ніж 70 % та IC₅₀ отримують з менше, ніж 4,00 мкМ кожної сполуки. Більшість сполук показали IC₅₀ значення нижче, ніж 1,50 мкМ.

15 Випробування II – Селективність на GSK-3β (випробування in vitro)
(а) Сполуки 1 та 2 випробовують по відношенню до панелі 60 кіназ для того, щоб оцінити її селективність. Випробування вибирають, беручи до уваги відмінність досліджуваних сімейств.

Випробовувані кінази є типовими представниками наступних кіназних підсімейств:

- протеїн-серін/треонін кінази;
- 20 - протеїн-тирозин кінази;

- інші кінази; та
- атипові кінази.

5 Рекомбінантні кінази людини інкубують у присутності специфічних пептидних субстратів плюс АТФ впродовж різних періодів часу (10, 15, 30, 60 або 90 хвилин) при 22 °С. Фосфорильований субстрат визначають за допомогою LANCE або HTRF технології (CISBIO, MA, USA). Сполуки випробовують при 10 мкМ у двох повторях.

Результати визначають як відсоток інгібування контрольної специфічної активності, отриманої у присутності випробовуваної сполуки 1, та представлені у наступній Таблиці 5.

Таблиця 5

Кіназне сімейство	Кіназне під-сімейство	Дослідження	% інгібування контрольних значень	
			сполука 1	сполука 2
Протеїн-тирозин кінази	RTK	c-Met кіназа (л)	3	0
	RTK	EphA4 кіназа (л)	0	0
	RTK	EphB2 кіназа (л)	4	7
	RTK	EphB4 кіназа (л)	2	17
	RTK	FGFR1 кіназа (л)	0	0
	RTK	FGFR4 кіназа (л)	0	0
	RTK	IGF1R кіназа (л)	0	0
	RTK	IRK (л) (InsR)	0	0
	RTK	Ret кіназа (л)	0	0
	RTK	TRKA (л)	1	0
	CTK	Abl кіназа (л)	0	0
	CTK	JAK1 (л)	0	0
	CTK	JAK2 (л)	0	0
	CTK	Fun кіназа (л)	0	3
	CTK	Src кіназа (л)	1	6
Протеїн серін/треонін кінази	CMGC	GSK3бета (л)	94	90
	CMGC	DYRK1a (л)	76	56
	CMGC	PCTAIRE1 кіназа (л)	22	71
	CMGC	CDC2/CDK1 (л) (сусВ)	7	0
	CMGC	CDK2 (л) (сусА)	18	11
	CMGC	CDK5 /p35 (л)	19	13
	CMGC	ERK1 (л)	20	15
	CMGC	ERK2 (л) (P42mapk)	58	46
	CMGC	p38альфа кіназа (л)	0	0
	CMGC	p38гама кіназа (л)	0	0
	CMGC	p38дельта кіназа (л)	0	0
	CaMK	CHK1 (л)	5	8
	CaMK	AMPKальфа	16	19
	CaMK	CaMK4 (л)	0	0
	CaMK	DAPK1 (л)	22	12
	CaMK	DCAMKL1 (л)	0	3
	CaMK	Pim2 кіназа (л)	3	4
	CaMK	MAPKAPK2 (л)	0	0
	CaMK	MNK2 (л)	0	0
	CaMK	PhKрама 2 (л)	30	1
	CaMK	Pim1 кіназа (л)	0	2
	CaMK	smMLCK (л) (MYLK)	0	8
	AGC	GRK3 /BARK2 (л) (ADRBK2)	0	0
	AGC	Akt1/PKBальфа (л)	0	4
	AGC	MSK1 (л)	7	16
	AGC	PDK1 (л)	6	6
	AGC	RSK2 (л)	0	1

Таблиця 5

Кіназне сімейство	Кіназне під-сімейство	Дослідження	% інгібування контрольних значень	
			сполука 1	сполука 2
	AGC	PKA (л)	0	2
	AGC	PKСальфа (л)	0	0
	AGC	PKСбета 1 (л)	0	1
	AGC	PKСрама (л)	3	0
	CK1	CK1альфа (л)	0	12
	STE	PAK1 (л)	1	0
	STE	HGK (л) (MAP4K4)	8	23
	STE	MEK1/MAP2K1 (л)	24	9
	STE	TAOK2 (TAO1) (л)	3	26
	TKL	DLK1 (л) (MAP3K12)	0	0
	TKL	IRAK4 (л)	0	8
Інші кінази	-	IKКальфа (л)	0	0
	-	IKКепсилон (л) (IKBKE)	0	0
	-	MYT1 кіназа (л)	0	1
	-	NEK1 (л)	0	0
	-	NEK7 (л)	0	0
	-	AurA/Aur2 кіназа (л)	7	1
Атипові кінази	-	AurB/Aur1 кіназа (л)	0	6
	-	mTOR кіназа (л) (FRAP1)	2	2

Результати підтверджують, що сполуки мають інгібуючу активність до GSK-3 β та вищу афінність до GSK-3 β у порівнянні з іншими кіназами, показуючи непоганий профіль селективності.

- 5 (b) Сполуки 3, 8, 29 та 31 випробовують по відношенню до панелі 60 кіназ за тих же умов, що описані вище для сполук 1 та 2.

Результати виражені як відсоток інгібування контрольної специфічної активності, отриманої у присутності випробовуваної сполуки, та представлені у наступній Таблиці 6.

Таблиця 6

Кіназне сімейство	Кіназне під-сімейство	Дослідження	Сполука 3	Сполука 8	Сполука 29	Сполука 31
Протеїн-тирозин кінази	RTK	c-Met кіназа (л)	0	7	--	--
	RTK	EphA4 кіназа (л)	0	0	--	--
	RTK	EphB2 кіназа (л)	0	2	--	--
	RTK	EphB4 кіназа (л)	0	0	--	--
	RTK	FGFR1 кіназа (л)	0	8	--	--
	RTK	FGFR4 кіназа (л)	0	2	--	--
	RTK	IGF1R кіназа (л)	0	3	--	--
	RTK	IRK (л) (InsR)	0	9	0	0
	RTK	Ret кіназа (л)	0	0	--	--
	RTK	TRKA (л)	0	14	3	0
	CTK	Abl кіназа (л)	0	0	--	--
	CTK	JAK1 (л)	4	7	--	--
	CTK	JAK2 (л)	0	23	--	--
	CTK	Fyn кіназа (л)	0	0	--	--
	CTK	Src кіназа (л)	0	0	0	9
Протеїн серін/треонін кінази	CMGC	GSK3бета (л)	89	99	100	89
	CMGC	DYRK1a (л)	51	99	100	77
	CMGC	PCTAIRE1 кіназа (л)	0	84	49	27
	CMGC	CDC2/CDK1 (л) (сусB)	8	80	80	10
	CMGC	CDK2 (л) (сусA)	21	92	77	35

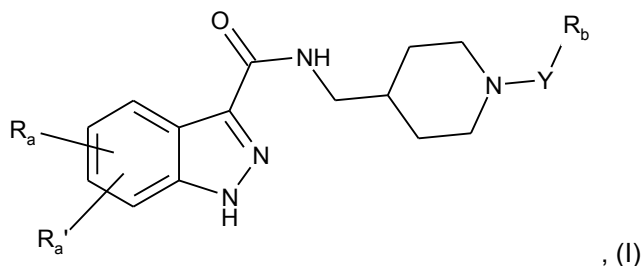
Таблиця 6

Кіназне сімейство	Кіназне під-сімейство	Дослідження	Сполука 3	Сполука 8	Сполука 29	Сполука 31
	CMGC	CDK5 /p35 (л)	9	77	77	16
	CMGC	ERK1 (л)	19	66	61	1
	CMGC	ERK2 (л) (P42mapk)	34	74	67	9
	CMGC	p38альфа кіназа (л)	0	1	--	--
	CMGC	p38гама кіназа (л)	--	--	--	--
	CMGC	p38дельта кіназа (л)	0	18	--	--
	CaMK	CHK1 (л)	0	0	--	--
	CaMK	AMPКальфа	5	68	--	--
	CaMK	CaMK4 (л)	15	4	--	--
	CaMK	DAPK1 (л)	3	47	--	--
	CaMK	DCAMKL1 (л)	0	0	--	--
	CaMK	Pim2 кіназа (л)	0	0	--	--
	CaMK	MAPKAPK2 (л)	0	17	--	--
	CaMK	MNK2 (л)	3	4	--	--
	CaMK	PhKгама 2 (л)	1	0	--	--
	CaMK	Pim1 кіназа (л)	12	17	--	--
	CaMK	smMLCK (л) (MYLK)	--	--	17	1
	AGC	GRK3 /BARK2 (л) (ADRBK2)	0	8	--	--
	AGC	Akt1/PKBальфа (л)	0	0	--	--
	AGC	MSK1 (л)	--	--	--	--
	AGC	PDK1 (л)	0	0	--	--
	AGC	RSK2 (л)	4	4	--	--
	AGC	PKA (л)	0	0	--	--
	AGC	PKСальфа (л)	5	19	--	--
	AGC	PKСбета 1 (л)	0	28	--	--
	AGC	PKСгама (л)	2	0	--	--
	CK1	CK1альфа (л)	0	6	--	--
	STE	PAK1 (л)	0	3	--	--
	STE	HGK (л) (MAP4K4)	3	72	71	10
	STE	MEK1/MAP2K1 (л)	--	--	75	9
	STE	TAOK2 (TAO1) (л)	0	79	61	9
	TKL	DLK1 (л) (MAP3K12)	0	58	--	--
	TKL	IRAK4 (л)	0	0	--	--
Інші кінази	-	IKКальфа (л)	0	1	--	--
	-	IKКепсилон (л) (IKBKE)	0	3	--	--
	-	MYT1 кіназа (л)	2	20	--	--
	-	NEK1 (л)	--	--	9	0
	-	NEK7 (л)	2	0	--	--
	-	AurA/Aur2 кіназа (л)	4	10	--	--
	-	AurB/Aur1 кіназа (л)	0	0	--	--
Атипові кінази	-	mTOR кіназа (л) (FRAP1)	--	--	--	--

Результати підтверджують, що також сполуки 3 та 31 мають інгібуючу активність до GSK-3 β та вищу афінність до GSK-3 β у порівнянні з усіма іншими кіназами, показуючи непоганий профіль селективності, та що сполуки 8 та 29 мають інгібуючу активність до GSK-3 β та непогану афінність до GSK-3 β у порівнянні з більшістю інших кіназ того ж сімейства та з кіназами різних сімейств.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки, що мають наступну загальну формулу (I):



у якій

R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідроксигрупу; C_1 - C_6 алкільну, C_2 - C_6 алкенільну, C_2 - C_6 алкінільну та C_1 - C_6 алкоксигрупу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкоксигрупа; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкоксигрупа, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$;

Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкільну, C_2 - C_6 алкенільну або C_2 - C_6 алкінільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкоксигрупа;

R_b являє собою C_1 - C_6 алкоксигрупу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NO_2$; $-NHC(O)R_1$;

R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та фенільну групу;

або їх солі приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами.

2. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 1, у яких R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену, вибраний з хлору, бромов та йоду; гідроксигрупу; C_1 - C_6 алкільну та C_1 - C_6 алкоксигрупу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$, або C_1 - C_3 алкоксигрупа; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, насичене або ненасичене, що має від 4 до 10 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкоксигрупа, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$; та R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та фенільну групу.

3. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 2, у яких R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом галогену, вибраний з хлору або бромов; гідроксигрупу; C_1 - C_6 алкільну групу; C_1 - C_6 алкоксигрупу або карбоциклічне або гетероциклічне кільце, насичене або ненасичене, що має від 5 до 6 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що складається з таких як: галоген, гідроксигрупа, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкоксигрупа, $-NR_1R_2$ та $-COOH$; та R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та фенільну групу.

4. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 3, у яких R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом бромов, гідроксигрупу; C_1 - C_3 алкоксигрупу або ненасичене карбоциклічне або гетероциклічне кільце, що має 6 членів, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, вибраними з групи, що складається з таких як: галоген, гідроксигрупа, C_1 - C_3 алкіл, C_1 - C_3 алкоксигрупа, $-NR_1R_2$ та $-COOH$; та R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкільну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та фенільну групу.

5. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за будь-яким з попередніх пунктів, у яких Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкоксигрупа.

6. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 5, у яких Y являє собою C_1 - C_6 алкільну групу.

7. 1Н-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 6, у яких Y являє собою C_1 - C_3 алкільну групу.

8. 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки за будь-яким з попередніх пунктів, у яких R_b являє собою C_1 - C_6 алкоксигрупу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NHCOR_1$.

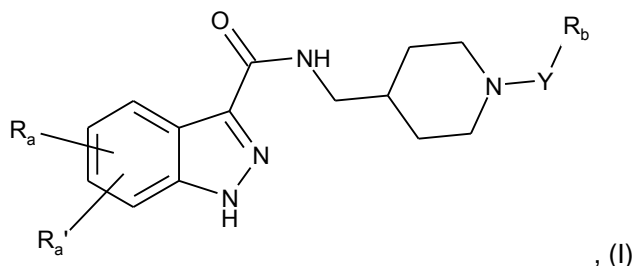
9. 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 8, у яких R_b являє собою C_1 - C_6 алкоксигрупу; $-C(O)OH$.

5 10. 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки за п. 9, у яких R_b являє собою C_1 - C_3 алкоксигрупу; $-C(O)OH$.

11. 1H-індазол-3-карбоксамідні сполуки за будь-яким з попередніх пунктів, у яких R_1 та R_2 незалежно являють собою C_1 - C_3 алкілну групу.

12. Застосування 1H-індазол-3-карбоксамідних сполук, що мають наступну загальну формулу (I)

10



у якій

15 R_a та $R_{a'}$, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідроксигрупу; C_1 - C_6 алкілну, C_2 - C_6 алкенільну, C_2 - C_6 алкінільну та C_1 - C_6 алкоксигрупу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкоксигрупа; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкоксигрупа, $-NR_1R_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR_1$ та $-C(O)NR_1R_2$;

20 Y являє собою зв'язок, C_1 - C_6 алкілну, C_2 - C_6 алкенільну або C_2 - C_6 алкінільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, $-NH_2$ та C_1 - C_3 алкоксигрупа;

R_b являє собою C_1 - C_6 алкоксигрупу; $-C(O)OH$; $-C(O)OR_1$; $-NO_2$; $-NHC(O)R_1$;

25 R_1 та R_2 незалежно являють собою атом водню, C_1 - C_4 алкілну групу, C_2 - C_4 алкенільну групу, C_2 - C_4 алкінільну групу та фенільну групу;

або їх солей приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами;

30 для лікування захворювання, що виникає з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраного з групи, що складається з таких як: (i) інсулінорезистентні розлади; (ii) нейродегенеративні захворювання; (iii) розлади настрою; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади; (vi) запалення, (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль.

35 13. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені інсулінорезистентні розлади вибирають з групи, що складається з таких як: діабет типу 2, синдром X, ожиріння та синдром полікістозу яєчників.

14. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені нейродегенеративні захворювання вибирають з групи, що складається з таких як: хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, хвороба Гентінгтона та спінальні нейродегенеративні розлади.

40 15. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 14, у якому зазначені спінальні нейродегенеративні розлади вибирають з групи, що складається з таких як: аміотрофічний бічний склероз, розсіяний склероз, спінальна м'язова атрофія та нейродегенерація через ураження спинного мозку.

45 16. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені розлади настрою вибирають з групи, що складається з таких як: біполярні розлади та депресивні розлади.

17. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 16, у якому зазначені біполярні розлади вибирають з групи, що складається з таких як: біполярний I, біполярний II, циклотимія та неспецифічний біполярний розлад (BD-NOS).

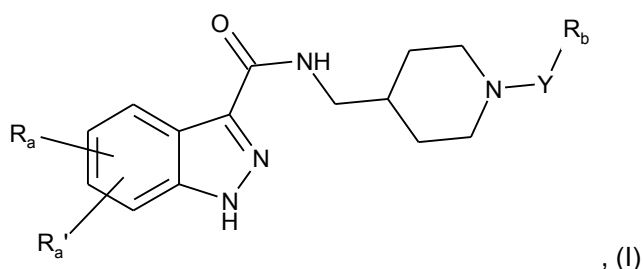
50 18. Застосування 1H-індазол-3-карбоксаміду за п. 16, у якому зазначені депресивні розлади вибирають з групи, що складається з таких як: глибокий депресивний розлад (MDD), атипова депресія (AD), меланхолічна депресія, психотична глибока депресія (PMD), кататонічна депресія, післяпологова депресія (PPD), сезонний афективний розлад (SAD), дистимія та неспецифічний депресивний розлад (DD-NOS).

19. Застосування 1Н-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами, вибирають з групи розладів, пов'язаних із зловживанням психостимулянтами.

20. Застосування 1Н-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені шизофренічні розлади вибирають з групи, що складається з таких як: параноїдальна шизофренія, гебефренічна шизофренія, кататонічна шизофренія, звичайна шизофренія, залишкова шизофренія та недиференційована шизофренія.

21. Застосування 1Н-індазол-3-карбоксаміду за п. 12, у якому зазначені ракові розлади вибирають з групи, що складається з таких як: рак передміхурової залози, підшлункової залози, яєчників та рак ободової та прямої кишки та MLL-асоційована лейкемія.

22. Спосіб лікування патологічного стану, що виникає з неконтрольованої активації та/або надекспресії GSK-3 β , вибраного з групи, що складається з таких як: (i) інсулінорезистентні розлади; (ii) нейродегенеративні захворювання; (iii) розлади настрою; (iv) шизофренічні розлади; (v) ракові розлади; (vi) запалення, (vii) розлади, пов'язані із зловживанням психоактивними речовинами; (viii) епілептичні напади; та (ix) невропатичний біль, шляхом введення людині, яка потребує такого лікування, ефективної кількості 1Н-індазол-3-карбоксаміду, що має наступну загальну формулу (I):



у якій

R_a та R_{a'}, що є однаковими або відрізняються один від іншого, являють собою атом водню; атом галогену; гідроксигрупу; C₁-C₆алкілну, C₂-C₆алкенільну, C₂-C₆алкінільну та C₁-C₆алкоксигрупу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, -NH₂ та C₁-C₃алкоксигрупа; карбоциклічне або гетероциклічне кільце, аліфатичне або ароматичне, що включає від 3 до 12 членів, необов'язково заміщене одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, C₁-C₆алкіл, C₁-C₆алкоксигрупа, -NR₁R₂, -C(O)OH, -C(O)OR₁ та -C(O)NR₁R₂;

Y являє собою зв'язок, C₁-C₆алкілну, C₂-C₆алкенільну або C₂-C₆алкінільну групу, необов'язково заміщену одним або більшою кількістю замісників, вибраних з групи, що включає такі як: галоген, гідроксигрупа, -NH₂ та C₁-C₃алкоксигрупа;

R_b являє собою C₁-C₆алкоксигрупу; -C(O)OH; -C(O)OR₁; -NO₂; -NHC(O)R₁;

R₁ та R₂ незалежно являють собою атом водню, C₁-C₄алкілну групу, C₂-C₄алкенільну групу, C₂-C₄алкінільну групу та фенільну групу;

або його солей приєднання з фармакологічно прийнятними органічними та неорганічними кислотами та основами.

23. Фармацевтична композиція, що включає ефективну кількість щонайменше однієї сполуки формули (I) за будь-яким з попередніх пп. 1-11, її солі з фармакологічно прийнятною органічною або неорганічною кислотою або основою та щонайменше один інертний фармакологічно прийнятний ексципієнт.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601