



УКРАЇНА

(19) UA (11) 86783 (13) C2

(51) МПК (2009)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

C07D 491/04 (2006.01)

A61K 31/41

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ТЕТРАЗОЛЬНІ ПОХІДНІ І СПОСОБИ ЛІКУВАННЯ РОЗЛАДІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ З МЕТАБОЛІЗМОМ, ЗА ЇХ ДОПОМОГОЮ

1

2

(21) а200605989

(22) 29.10.2004

(24) 25.05.2009

(86) PCT/US2004/035927, 29.10.2004

(31) 60/516,238

(32) 31.10.2003

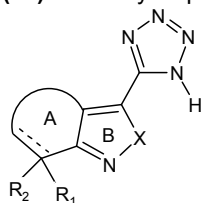
(33) US

(46) 25.05.2009, Бюл.№ 10, 2009 р.

(72) СЕМПЛ ГРЕЕМ, ШРАДЕР ТОМАС, СКІННЕР  
ФІЛІПП ДЖ., КОЛЛЕТТІ СТІВЕН Л., ГХАРБАУІ ТА-  
ВФІК, ІМБРІЛІО ДЖЕЙСОН Е., ДЗУНГ ДЗАЕ-КІУ,  
ЛЯН ЖУЙ, РАГХАВАН СУБХАРЕКХА, ШМІДТ ДА-  
РБІ, ТАТА ДЖЕЙМС Р.(73) АРЕНА ФАРМАСЬОТІКАЛЗ, ІНК., МЕРК ЕНД  
КО., ІНК.

(56) EP 0529854 A (03.03.1993)

(57) 1. Сполука формули (I):



, (I)

де

X являє собою NH або O;

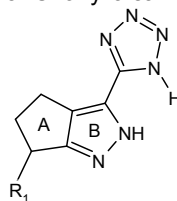
R<sub>1</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галоге-  
ну, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу,  
аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу,  
C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>  
циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>  
алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілсульфонілу;R<sub>2</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галоге-  
ну, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу,  
аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>  
алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>  
циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>  
алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілсульфонілу;  
або R<sub>2</sub> відсутній;--- являє собою одинарний зв'язок, коли R<sub>2</sub> прису-  
тній, або --- являє собою подвійний зв'язок, коли  
R<sub>2</sub> відсутній; ікільце A являє собою 5-, 6- або 7-членне карбоци-  
клічне кільце або 5-, 6- або 7-членне гетероцикліч-  
не кільце, необов'язково заміщене 1-4 замісника  
ми, вибраними з групи, яка складається з галогену,  
гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу,  
аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу,  
C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>  
циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>  
алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>  
галогеналкілсульфонілу; абоїї фармацевтично прийнятна сіль, сольват або  
гідрат.

2. Сполука за п.1 де

X являє собою NH;

R<sub>1</sub> являє собою H або гідрокси;R<sub>2</sub> являє собою H або відсутній;--- являє собою одинарний зв'язок, коли R<sub>2</sub> являє  
собою H, або--- являє собою подвійний зв'язок, коли R<sub>2</sub> відсут-  
тній; ікільце A являє собою 5-членне карбоциклічне кі-  
льце або 5-членне гетероциклічне кільце, необо-  
в'язково заміщене 1-4 замісниками, вибраними з  
групи, яка складається з галогену, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>  
алкокси і C<sub>3-5</sub>циклоалкілу; абоїї фармацевтично прийнятна сіль, сольват або  
гідрат.

3. Сполука за п.1, що має формулу (If):



, (If)

де

R<sub>1</sub> являє собою H або гідрокси; і

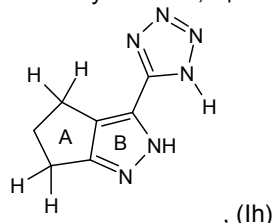
(13) C2

(11) 86783

(19) UA

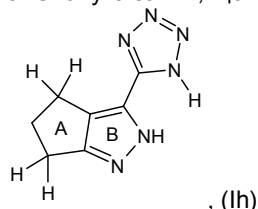
кільце А необов'язково заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

4. Сполука за п.1, що має формулу (Ih):



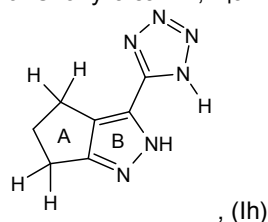
де  
кільце А необов'язково заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

5. Сполука за п.1, що має формулу (Ih):



де кільце А є незаміщеним або заміщене етилом; або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

6. Сполука за п.1, що має формулу (Ih):



де  
кільце А заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, н-пропілу, н-бутилу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

7. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

8. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-тієно[3,4-с]піразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

9. Сполука за п.1, яка являє собою 6-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-фуоро[3,4-с]піразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

10. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

11. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол, або

її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

12. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-фуоро[3,4-с]піразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

13. Сполука за п.1, яка являє собою 5-етил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

14. Сполука за п.1, яка являє собою 5-бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

15. Сполука за п.1, яка являє собою 5-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

16. Сполука за п.1, яка являє собою 5-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

17. Сполука за п.1, яка являє собою 5-пропіл-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

18. Сполука за п.1, яка являє собою 5-пропокси-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

19. Сполука за п.1, яка являє собою 5-циклопентил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

20. Сполука за п.1, яка являє собою 5-фтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

21. Сполука за п.1, яка являє собою 5-ізобутоксис-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

22. Сполука за п.1, яка являє собою 5-бутоксис-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

23. Сполука за п.1, яка являє собою 3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-6-ол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

24. Сполука за п.1, яка являє собою 5-метоксис-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

25. Сполука за п.1, яка являє собою 5,5-дифтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

26. Сполука за п.1, яка являє собою 5-етоксис-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат.

27. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп.1-26 в комбінації з фармацевтично прийнятним носієм.

28. Спосіб лікування розладів, пов'язаних з метаболізмом, який включає введення індивідууму, що потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки за будь-яким з пп.1-26.
29. Спосіб за п.28, в якому вказаний розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну і діабету типу 2.
30. Спосіб за п.28, в якому вказаний розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою атеросклероз.
31. Спосіб підвищення рівнів HDL у індивідуума, який включає введення вказаному індивідууму терапевтично ефективної кількості сполуки за будь-яким з пп.1-26.
32. Сполука за будь-яким з пп.1-26 для застосування в способі лікування організму людини або тварини за допомогою терапії.
33. Сполука за будь-яким з пп.1-26 для застосування в способі лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії.
34. Сполука за будь-яким з пп.1-26 для застосування в способі лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії, де вказаний розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарно-

го захворювання серця, резистентності до інсуліну і діабету типу 2.

35. Сполука за будь-яким з пп.1-26 для застосування в способі лікування атеросклерозу в організмі людини або тварини за допомогою терапії.
36. Сполука за будь-яким з пп.1-26 для застосування в способі підвищення рівнів HDL в організмі людини або тварини за допомогою терапії.
37. Застосування сполуки за будь-яким з пп.1-26 для виготовлення лікарського засобу для застосування при лікуванні розладу, пов'язаного з метаболізмом.
38. Застосування сполуки за будь-яким з пп.1-26 для виготовлення лікарського засобу для застосування при лікуванні розладу, пов'язаного з метаболізмом, вибраного з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну і діабету типу 2.
39. Застосування сполуки за будь-яким з пп.1-26 для виготовлення лікарського засобу для застосування при лікуванні атеросклерозу.
40. Застосування сполуки за будь-яким з пп.1-26 для виготовлення лікарського засобу для застосування при підвищенні рівнів HDL у індивідуума.
41. Спосіб отримання фармацевтичних композицій, що включає змішування сполуки за будь-яким з пп.1-26 і фармацевтично прийняттого носія.

Даний винахід відноситься до певних тетразо-  
льних похідних і їх фармацевтично прийнятних  
солей, які демонструють корисні фармакологічні  
властивості, наприклад, як агоністи рецептора  
нікотинової кислоти, RUP25. Даним винаходом  
також передбачаються фармацевтичні композиції,  
що містять одну або декілька сполук даного вина-  
ходу, і способи застосування сполук і композицій  
даного винаходу при лікуванні розладів, пов'яза-  
них з метаболізмом, включаючи дисліпідемію,  
атеросклероз, коронарне захворювання серця,  
резистентність до інсуліну, діабет типу 2, синдром  
Х і т.п.В доповнення, даний винахід також перед-  
бачає застосування сполук даного винаходу в  
комбінації з іншими активними агентами, які нале-  
жать до класу інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази, інгібіторів  
альдозаредуктази, бігуанідів, інгібіторів HMG-CoA  
редуктази, інгібіторів синтезу скваленів, фібратів,  
підсилювачів катаболізму LDL, інгібіторів ангіотен-  
зин-перетворювального ферменту (ACE), підси-  
лювачів секреції інсуліну, тіазолідиндіону і т. п.

Сполуки даного винаходу як антиліполітичні  
агенти

Атеросклероз і удар являють собою першу і  
третю по значенню головні причини смерті як чо-  
ловіків, так і жінок, в Сполучених Штатах. Діабет  
типу 2 являє собою проблему суспільного здоро-  
в'я, яка є серйозною, широко поширеною і такою,  
що збільшується. Підвищені рівні холестерину з  
ліпопротеїнами низької щільності (LDL) або низькі  
рівні холестерину з ліпопротеїнами високої щіль-  
ності (HDL) являють собою, незалежно, фактори  
ризiku для атеросклерозу і пов'язаних з ним сер-  
цево-судинних патологій. У доповнення, високі

рівні вільних жирних кислот в плазмі крові пов'яза-  
ні з резистентністю до інсуліну і діабетом типу 2.  
Одна з стратегій зниження рівня LDL-холестерину,  
підвищення HDL-холестерину і зменшення рівня  
вільних жирних кислот в плазмі полягає в інгібу-  
ванні ліполізу в жировій тканині. Цей підхід вклю-  
чає регуляцію гормон-чутливої ліпази, яка являє  
собою фермент, що лімітує швидкість при ліполізі.  
Ліполітичні агенти підвищують клітинні рівні цАМФ,  
що приводить до активування гормон-чутливої  
ліпази в адипоцитах. Агенти, які знижують внутрі-  
шньоклітинні рівні цАМФ, навпаки, повинні бути  
антиліполітиними.

У минулому також помічено, що підвищення  
клітинних рівнів цАМФ негативно регулює секрецію  
адипонектину з адипоцитів [Delporte, M. L. et al.  
Biochem. J. (2002) July]. Знижені рівні адипонекти-  
ну в плазмі асоціюються з розладами, пов'язаними  
з метаболізмом, включаючи атеросклероз, коро-  
нарне захворювання серця, резистентність до ін-  
суліну і діабет типу 2 [Matsuda, M. et al. J Biol.  
Chem. (2002) July, і наведені там посилання].

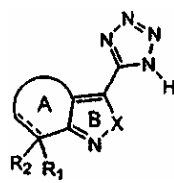
Нікотинова кислота (ніацин, піридин-3-  
карбонова кислота) являє собою водорозчинний  
вітамін, необхідний організму людини для здоро-  
в'я, росту і розмноження; частину комплексу віта-  
міну В. Нікотинова кислота також являє собою  
один з найстаріших лікарських засобів, що викори-  
стовуються для лікування дисліпідемії. Вона являє  
собою лікарський засіб, цінний тим, що він сприяє  
либов впливає практично на всі параметри ліпідів,  
перераховані вище [за Goodman and Gilman's  
Pharmacological of Therapeutics, editors Harmon  
J.G. and Limbird I.E., Chapter 36, Mahley R.W. and

Bersot T.P. (2001) pages 971-1002]. Переваги нікотинової кислоти при лікуванні або профілактиці атеросклеротичного серцево-судинного захворювання документовані в шести головних клінічних випробуваннях [Guyton J.R. (1998) *Am. J. Cardiol.* 82:18U-23U]. Нікотинова кислота і пов'язані з нею похідні, такі як, аципімокс, були обговорені нещодавно [Lorenzen, A. et al. (2001) *Molecular Pharmacology* 59:349-357]. Структура і синтез додаткових аналогів або похідних нікотинової кислоти обговорюються в [Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Tenth Edition (1983)], які включаються в даний опис за допомогою посилань у всій їх повноті.

Нікотинова кислота інгібує продукування і вивільнення вільних жирних кислот з жирової тканини, ймовірно, за допомогою інгібування аденілатциклази, зменшення внутрішньоклітинних рівнів цАМФ і одночасного зменшення активності гормон-чутливої ліпази. Агоністи, які негативно регулюють активність гормон-чутливої ліпази, приводячи до зниження рівнів вільних жирних кислот в плазмі крові, ймовірно, повинні мати терапевтичне значення. Наслідки зниження рівнів вільних жирних кислот в плазмі крові є двоякими. По-перше, це, зрештою, знижує рівні LDL-холестерину і підвищує рівні HDL-холестерину, незалежних факторів ризику, тим самим, знижуючи ризик смертності через серцево-судинний напад після утворення атероми. По-друге, воно буде забезпечувати підвищення чутливості до інсуліну у індивідуумів з резистентністю до інсуліну або діабетом типу 2. На жаль, застосування нікотинової кислоти як терапевтичного засобу частково обмежується рядом пов'язаних з ним негативних побічних ефектів. Вони включають гіперемію, повторне зв'язування вільних жирних кислот і токсичність для печінки.

Рациональна розробка нових агоністів рецепторів нікотинової кислоти, які мають менше побічних ефектів, була б дуже корисною, але в даний час вона уповільнюється нездатністю до молекулярної ідентифікації рецептора нікотинової кислоти. Крім того, інші рецептори того ж класу можуть існувати на поверхні адипоцитів і подібним чином зменшувати активність гормон-чутливої ліпази за допомогою зниження рівня внутрішньоклітинного цАМФ, але, не викликаючи негативних впливів, таких як гіперемія, тим самим являючи собою перспективні нові терапевтичні мішені. У недавній роботі говориться про те, що нікотинова кислота, ймовірно, діє за допомогою специфічного GPCR (рецептора, пов'язаного з G-білком) [Lorenzen A, et al. (2001) *Molecular Pharmacology* 59: 349-357 і наведені там посилання]. У ще одній роботі говориться, що впливи нікотинової кислоти на макрофаги, селезінку і, ймовірно, на адипоцити, медіюються за допомогою цього специфічного GPCR [Lorenzen A, et al. (2002) *Biochemical Pharmacology* 64: 645-648 і наведені там посилання].

Один з аспектів даного винаходу охоплює тетраольні похідні, як показано в формулі (I):



(I)

де

X являє собою NH або O;

R<sub>1</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтію, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтію, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу;

R<sub>2</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтію, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтію, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу; або R<sub>2</sub> відсутній;

— являє собою одинарний зв'язок, коли R<sub>2</sub> присутній, або — являє собою подвійний зв'язок, коли R<sub>2</sub> відсутній; і

кільце A являє собою 5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце або 5-, 6- або 7-членне гетероциклічне кільце, необов'язково заміщене 1-4 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтію, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтію, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу; або

їх фармацевтично прийнятну сіль, сольват або гідрат.

Один з аспектів даного винаходу охоплює фармацевтичні композиції, що містять, щонайменше, одну сполуку відповідно до формули (I), як описано вище.

У деяких варіантах здійснення фармацевтичної композиції додатково містить один або декілька агентів, вибраних з групи, яка складається з інгібітора α-глюкозидази, інгібітора альдозоредуктази, бігуаніду, інгібітора HMG-CoA редуктази, інгібітора синтезу скваленів, фібрату, підсилювача катаболізму LDL, інгібітора ангіотензин-перетворювального ферменту, підсилювача секреції інсуліну і тіазолідиндіону.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до способів лікування розладів, пов'язаних з метаболізмом, що включає введення індивідууму, що потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки відповідно до формули (I), як описано вище, або її фармацевтичної композиції.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до способів модулювання рецептора RUP25, що

включають контактування рецептора із сполукою відповідно до формули (I), як описано вище.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до способів модулювання рецептора RUP25 для лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, у індивідуума, що потребує такого модулювання, що включає контактування вказаного рецептора з терапевтично ефективною кількістю сполуки відповідно до формули (I), як описано вище.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до способів підвищення рівнів HDL у індивідуума, що включають введення індивідууму терапевтично ефективної кількості сполуки відповідно до формули (I), як описано вище.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до сполуки формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування організму людини або тварини за допомогою терапії.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до сполуки формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування розладів, пов'язаних з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії.

Один з аспектів даного винаходу відноситься до застосування сполук формули (I), як описано вище, для виготовлення лікарського засобу, що застосовується при лікуванні розладу, пов'язаного з метаболізмом.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну, огрядності, порушеної толерантності до глюкози, атероматозного захворювання, гіпертензії, удару, синдрому Х, захворювання серця і діабету типу 2. В деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою дисліпідемію, атеросклероз, коронарне захворювання серця, резистентність до інсуліну і діабет типу 2. В деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою дисліпідемію. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою атеросклероз. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою коронарне захворювання серця. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою резистентність до інсуліну. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою діабет типу 2.

Один з аспектів даного винаходу охоплює спосіб отримання фармацевтичної композиції, що включає змішування, щонайменше, однієї сполуки відповідно до формули (I), як описано вище, і фармацевтично прийняттого носія або ексципієнта.

Ці та інші аспекти даного винаходу, що розкриваються в даному описі, будуть наведені більш детально по ходу опису патенту.

У науковій літературі прийнятий ряд термінів, і для скорочення і ясності, наступні визначення будуть використовуватися в цьому патентному документі.

Термін «агоністи» означає залишки, які взаємодіють з рецептором і активують його, наприклад, рецептор RUP25, і ініціюють фізіологічну або

фармакологічну реакцію, характерну для цього рецептора. Наприклад, коли залишки активують внутрішньоклітинну реакцію при зв'язуванні з рецептором або посилюють зв'язування GTP з мембранами.

Скорочені найменування амінокислот, що використовуються в даному описі, наведені в таблиці 1:

Таблиця 1

АЛАНІН	ALA	A
АРГІНІН	ARG	R
АСПАРАГІН	ASN	N
АСПРАПНОВА КИСЛОТА	ASP	D
ЦИСТЕЇН	CYS	3
ГЛУТАМШОВА КИСЛОТА	GLU	E
ГЛУТАМШ	GLN	Q
ГЛІЦИН	GLY	G
ГІСТИДИН	HIS	H
ІЗОЛЕЙЦИН	ILE	I
лейцин	LEU	L
ЛІЗИН	LYS	K
МЕТІОНІН	MET	M
ФЕНІЛАЛАНІН	PHE	F
ПРОЛІН	PRO	P
СЕРИН	SER	s
ТРЕОНІН	THR	t
ТРИПТОФАН	TRP	w
ТИРОЗИН	TYR	Y
ВАЛІН	VAL	v

Термін «антагоністи» призначений для позначення залишків, які конкурентно зв'язуються з рецептором на тій самій ділянці, що й агоністи (наприклад, ендogenousний ліганд), але які не активують внутрішньоклітинну реакцію, що ініціюється активною формою рецептора, і можуть, з цієї причини, інгібувати внутрішньоклітинні реакції агоністами або частковими агоністами. Антагоністи не зменшують базову внутрішньоклітинну реакцію у відсутність агоніста або часткового агоніста.

Термін «атеросклероз» призначений в даному описі для обсягу розладів артерій великого і середнього розміру, які приводять до безперервної акумуляції всередині них клітин гладеньких м'язів і ліпідів.

Хімічна група, залишок і радикал:

Термін "C<sub>1-4</sub>ацил" означає C<sub>1-4</sub>алкільний радикал, сполучений з карбонілом, де алкіл має такі ж значення, як описано вище; деякі приклади включають, але, не обмежуючись ними, ацетил, пропіоніл, н-бутаноїл, ізобутаноїл, вторбутаноїл, трет-бутаноїл (тобто, півалоїл), пентаноїл і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>ацилокси" означає ацильний радикал, сполучений з атомом кисню, де ацил має такі ж значення, як описано вище; деякі приклади включають, але, не обмежуючись ними, ацетилокиси, пропінілокси, бутаноїлокси, ізобутаноїлокси, вторбутаноїлокси, трет-бутаноїлокси і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкеніл" означає радикал, що містить 2-4 атоми вуглецю, де присутній, щонайменше, один подвійний зв'язок вуглець-вуглець, деякі варіанти здійснення містять 2-3 атоми вуглецю, і

деякі варіанти здійснення мають 2 атоми вуглецю. Термін "алкеніл" охоплює як E, так і Z ізомери. Крім того, термін "алкеніл" включає дієни. Відповідно, якщо є більше одного подвійного зв'язку, тоді зв'язки можуть являти собою всі, E або Z або суміші E і Z. Приклади алкенілу включають вініл, пропеніл, аліл, ізопропеніл, 2-метилпропеніл, метилпропеніл, бут-1-еніл, бут-2-еніл, бут-3-еніл, бута-1,3-дієніл і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкокси" означає алкільний радикал, як визначено вище, сполучений безпосередньо з атомом кисню. Приклади включають метокси, етокси, н-пропокси, ізопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, ізобутокси, вторбутокси і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкіл" означає вуглецевий радикал з прямим або розгалуженим ланцюгом, що містить вказану кількість атомів вуглецю, наприклад, в деяких варіантах здійснення алкіл являє собою "C<sub>1-4</sub>алкіл" і група містить 1-4 атоми вуглецю. У деяких варіантах здійснення алкіл містить 1-3 атоми вуглецю, деякі варіанти здійснення містять 1 атом вуглецю. Приклади алкілу включають, але, не обмежуючись ними, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, трет-бутил, вторбутил і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкілсульфініл" означає C<sub>1-4</sub>алкільний радикал, сполучений з сульфоксидним радикалом формули: -S(O)-, де алкільний радикал має такі ж значення, як описано вище. Приклади включають, але, не обмежуючись ними, метилсульфініл, етилсульфініл, н-пропілсульфініл, ізопропілсульфініл, н-бутилсульфініл, вторбутилсульфініл, ізобутилсульфініл, трет-бутил і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкілсульфоніл" означає C<sub>1-4</sub>алкільний радикал, сполучений з сульфоновим радикалом формули: -S(O)<sub>2</sub>-, де алкільний радикал має такі ж значення, як описано вище. Приклади включають, але, не обмежуючись ними, метилсульфоніл, етилсульфоніл, н-пропілсульфоніл, ізопропілсульфоніл, н-бутилсульфоніл, вторбутилсульфоніл, ізобутилсульфоніл, трет-бутилсульфоніл і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкілтіо" означає C<sub>1-4</sub>алкільний радикал, сполучений з сульфідною групою формули: -S-, де алкільний радикал має такі ж значення, як описано вище. Приклади включають, але, не обмежуючись ними, метилсульфаніл (тобто, CH<sub>3</sub>S-), етилсульфаніл, н-пропілсульфаніл, ізопропілсульфаніл, н-бутилсульфаніл, вторбутилсульфаніл, ізобутилсульфаніл, трет-бутил і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкініл" означає радикал, що містить 2-4 атоми вуглецю і, щонайменше, один потрійний зв'язок вуглець-вуглець, деякі варіанти здійснення мають 2-3 атоми вуглецю, і деякі варіанти здійснення мають 2 атоми вуглецю. Приклади алкінілу включають, але, не обмежуючись ними, етиніл, проп-1-ініл, 3-проп-2-ініл, бут-1-ініл, 1-метилпроп-2-ініл, бута-1,3-діїніл і т. п. Термін "алкініл" включає діїни.

Термін "аміно" означає групу -NH<sub>2</sub>.

Термін "C<sub>1-4</sub>алкіламіно" означає один алкільний радикал, сполучений з амінорадикалом, де алкільний радикал має такі ж значення, як вказано вище. Деякі приклади включають, але, не обме-

жуючись ними, метиламіно, етиламіно, н-пропіламіно, ізопропіламіно, н-бутиламіно, вторбутиламіно, ізобутиламіно, трет-бутиламіно і т. п. Деякі варіанти здійснення являють собою "C<sub>1-2</sub>алкіламіно".

Термін "арил" означає ароматичний циклічний радикал, що містить 6-10 атомів вуглецю в кільці. Приклади включають феніл і нафтил.

Термін "карбо-C<sub>1-4</sub>алкокси" означає C<sub>1-4</sub>алкільний ефір карбонової кислоти, де алкільна група є такою, як визначено вище. Приклади включають, але, не обмежуючись ними, карбометокси, карбоетокси, карбопропокси, карбоізопропокси, карбобутокси, карбовторбутокси, карбоізобутокси, карбо-трет-бутокси і т. п.

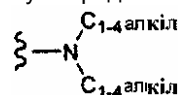
Термін "карбоксамід" відноситься до групи -CONH<sub>2</sub>.

Термін "карбокси" або "карбоксил" означає групу -CO<sub>2</sub>H; також вказану як групу карбонової кислоти.

Термін "ціано" означає групу -CN.

Термін "C<sub>3-6</sub>циклоалкіл" означає насичений циклічний радикал, що містить 3-6 атомів вуглецю; деякі варіанти здійснення містять 3-5 атомів вуглецю; деякі варіанти здійснення містять 3-4 атоми вуглецю. Приклади включають, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил.

Термін "C<sub>2-8</sub>діалкіламіно" означає аміно, заміщену двома однаковими або різними алкільними радикалами, де алкільний радикал має такі ж значення, як описаний вище. C<sub>2-8</sub>діалкіламіно може бути представлена наступними групами:



Приклади C<sub>2-8</sub>діалкіламіно включають, але, не обмежуючись ними, диметиламіно, метилетиламіно, діетиламіно, метилпропіламіно, метилізопропіламіно і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>галогеналкокси" означає галогеналкіл, як визначено вище, який безпосередньо сполучений з атомом кисню. Приклади включають, але, не обмежуючись ними, дифторметокси, трифторметокси, 2,2,2-трифторетокси, пентафторетокси і т. п.

Термін "C<sub>1-4</sub>галогеналкіл" означає алкільну групу, де алкіл заміщений галогеном в межах від одного атома до повного заміщення, де повністю заміщений галогеналкіл може бути представлений формулою C<sub>n</sub>L<sub>2h+1</sub>, де L являє собою галоген і "h" являє кількість атомів вуглецю; коли є більше за один атом галогену, тоді галогени можуть бути однаковими або різними і вибиратися з групи, яка складається з F, Cl, Br і I; вважається, що терміни "алкіл" і "галоген" мають такі ж значення, як визначено вище. У деяких варіантах здійснення галогеналкіл являє собою "C<sub>1-4</sub>галогеналкіл", і група містить 1-4 атоми вуглецю, деякі варіанти здійснення містять 1-2 атоми вуглецю, деякі варіанти здійснення містять 1 атом вуглецю. Коли галогеналкіл є повністю заміщеним атомами галогену, ця група вказана як пергалогеналкіл, один з прикладів являє собою алкіл, повністю заміщений атомами фтору, і вказана як "перфторалкіл." У деяких

варіантах здійснення приклади галогеналкілу включають, але, не обмежуючись ними, дифторметил, фторметил, 2,2,2-трифторетил, 2,2-дифторетил, 2-фторетил, 1,2,2-трифторетил, 1,2-дифторетил, 1,1-дифторетил, 1,1,2-трифторетил, 3,3,3-трифторпропіл, 2,2-дифторпропіл, 3,3-дифторпропіл, 3-фторпропіл, 2,3,3-трифторпропіл, 2,3-дифторпропіл, 2,2,3,3,3-пентафторпропіл, 2,2,3,3-тетрафторпропіл, 2,2,3-трифторпропіл, 1,2,3,3-тетрафторпропіл, 1,2,3-трифторпропіл, 3,3-дифторпропіл, 1,2,2,3-тетрафторпропіл, 4,4-дифторбутил, 3,3-дифторбутил, 4,4,4-трифторбутил, 3,3-дифторбутил і т.п. В деяких варіантах здійснення приклади перфторалкілу включають, але, не обмежуючись ними, трифторметил, пентафторетил, гептафторпропіл, 1,2,2,2-тетрафтор-1-трифторметилетил і т.п.

Термін "C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфініл" означає галогеналкільний радикал, сполучений з сульфоксидною групою формули: -S(O)-, де галогеналкільний радикал має такі ж значення, як описано вище.

Термін "C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфоніл" означає галогеналкільний радикал, сполучений з сульфоновною групою формули: -S(O)<sub>2</sub>-, де галогеналкіл має такі ж значення, як описано вище.

Термін "C<sub>1-4</sub>галогеналкілтіо" означає галогеналкільний радикал, безпосередньо сполучений з атомом сірки, де галогеналкіл має такі ж значення, як вказано вище.

Термін "галоген" або "гало" означає групу фтору, хлору, бромю або йоду.

Термін "гідроксил" означає групу -OH.

Термін "нітро" означає групу -NO<sub>2</sub>.

Термін "тіокси" означає групу -SH.

Скорочення ДМФА означає диметилформамід.

Скорочення ДМСО означає диметилсульфоксид.

Скорочення ТГФ означає тетрагідрофуран.

Скорочення DCM означає дихлорметан.

Скорочення Нех означає гексан.

Скорочення TBDMS означає трет-бутилдиметилсиліл.

Скорочення PTSA означає паратолуолсульфонову кислоту.

Скорочення LDA означає діізопропіламід літію.

Скорочення LHMDs означає гексаметилдисилазанлітію.

Скорочення TFA означає трифтороцтову кислоту.

Скорочення EDC означає гідрохлорид 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду.

Скорочення dprf означає 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен.

Термін CODON означає групу з трьох нуклеотидів (або еквівалентів нуклеотидів), яка, як правило, містить нуклеозид (аденозин (A), гуанозин (G), цитидин (C), уридин (U) і тимідин (T)), сполучений з фосфатною групою і який, коли трансклюється, кодує амінокислоту.

Термін «композиція» означає склад, що містить, щонайменше, дві сполуки або два компоненти; наприклад, але без обмеження, фармацевтична композиція являє собою композицію, що

містить сполуку даного винаходу і фармацевтично прийнятний носій.

Термін «ефективність сполуки» означає вимірювання здатності сполуки до інгібування або стимулювання функціонування рецептора, в протилежність афінності зв'язування рецептора.

Термін «рецептор, що конститутивно активується» означає рецептор, що зазнає конститутивного активування рецептора.

Термін «конститутивне активування рецептора» означає стабілізацію рецептора в активному стані за допомогою засобів, інших, ніж зв'язування рецептора з його ендogenousним лігандом або його хімічним еквівалентом.

Терміни «контакт або контактування» означають зведення вказаних залишків разом або в системі in vitro, або в системі in vivo. Таким чином, «контактування» рецептора RUP25 із сполукою даного винаходу включає введення сполуки даного винаходу індивідууму, наприклад, людині, що має рецептор RUP25, а також, наприклад, введення сполуки даного винаходу в зразок, що містить клітинний або більш очищений препарат, що містить рецептор RUP25.

Термін «коронарне захворювання серця» призначений для охопту розладів, що включають звуження малих кровоносних судин, які забезпечують кров'ю і киснем серце. Коронарне захворювання серця звичайно є наслідком відкладення жирового матеріалу і утворення бляшок. Коли коронарні артерії вузькають, потік крові до серця може сповільнюватися або зупинятися. Коронарне захворювання серця може викликати біль у грудях (стабільну стенокардію), задишку, серцевий напад, або інші симптоми.

«Зменшення» використовується в даному описі для вказівки зменшення на вимірну величину і використовується взаємозамінно з термінами "скорочують", "ослаблюють", "знижують" і "полегшують".

Термін «діабет» використовується в даному описі для охопту звичайного діагнозу діабет, отриманого за допомогою будь-якого способу, включаючи, але, не обмежуючись ними, наступний список: симптоми діабету (наприклад, поліурія, полідипсія, поліфагія) плюс нерегулярні рівні глюкози в плазмі крові, що дорівнюють або більші, ніж 200 мг/дл, де нерегулярний рівень глюкози в плазмі визначається в будь-який час дня, незалежно від часового графіка споживання їжі або напоїв; рівні глюкози в плазмі крові при 8 годинному голодуванні, що дорівнюють або менші, ніж 126 мг/дл; і рівні глюкози в плазмі крові, що дорівнюють або більші, ніж 200 мг/дл, через 2 години після перорального введення 75 г безводної глюкози, розчиненої у воді.

Фраза «розлади метаболізму ліпідів» призначена в даному описі для включення, але без обмеження, дисліпідемії.

Термін «дисліпідемія» призначений в даному описі для охопту розладів, що включають одну з ознак: підвищений рівень вільних жирних кислот в плазмі, підвищений рівень холестерину в плазмі, підвищений рівень LDL-холестерину, підвищений

рівень HDL-холестерину і підвищений рівень тригліцеридів в плазмі крові.

Фраза «що потребує лікування», як використовується в даному описі, відноситься до думки, що робиться фахівцем, який спостерігає (наприклад, лікарем, медичною сестрою, медичним працівником і т.п., у випадку людей; ветеринаром, у випадку тварин, включаючи ссавців, що відрізняються від людей), що індивідуум або тварина вимагає лікування або отримає полегшення від лікування. Ця думка робиться на основі безлічі чинників, які оцінюються фахівцем, що спостерігає, виходячи з його досвіду, який включає знання того, що індивідуум хворий або захворіє внаслідок захворювання, стану або розладу, який може лікуватися за допомогою сполук даного винаходу. Крім того, фраза "що потребує лікування" відноситься також до "профілактики" індивідуума, про якого фахівець, що спостерігає, робить думку, що індивідуум захворіє. У цьому контексті, сполуки даного винаходу використовуються для захисту або профілактики. Відповідно, "що потребує лікування" відноситься до думки фахівця, що спостерігає, про те, що індивідуум вже хворий або захворіє, і сполуки даного винаходу можуть застосовуватися для ослаблення, інгібування, полегшення або запобігання захворюванню, стану або розладам.

Термін «індивідуум», як використовується в даному описі, відноситься до будь-якої тварини, включаючи ссавців, наприклад, мишей, щурів, інших гризунів, кролів, собак, котів, свиней, велику рогату худобу, овець, коней або приматів, і в одному з варіантів здійснення людей.

Терміни «інгібувати або інгібування», в зв'язку з терміном "реакція" означають, що реакція зменшується або запобігається в присутності сполуки, в протилежність відсутності сполуки.

Термін «резистентність до інсуліну», як використовується в даному описі, призначений для обхвату звичайного діагнозу резистентності до інсуліну, зробленого за допомогою ряду способів, включаючи, але, не обмежуючись цим: внутрішньовенне дослідження на толерантність до глюкози або вимірювання рівня інсуліну натщесерце. Добре відомо, що є чудова кореляція між зростанням рівня інсуліну натщесерце і ступенем резистентності до інсуліну. З цієї причини, можна використовувати підвищені рівні інсуліну натщесерце як сурогатний маркер для резистентності до інсуліну, для цілей ідентифікації того, які індивідууми з нормальною толерантністю до глюкози (NGT) мають резистентність до інсуліну. Діагноз резистентності до інсуліну також може бути поставлений з використанням тесту з фіксацією еуглікемічної глюкози.

Термін «зворотні агоністи» означає залишки, які зв'язують ендogenous форму рецептора або форму рецептора, що активується конститутивно, і які інгібують базову внутрішньоклітинну реакцію, що ініціюється активною формою рецептора, нижче нормального базового рівня активності, який спостерігається у відсутність агоністів або часткових агоністів, або зменшують зв'язування GTP з мем-

бранами. У деяких варіантах здійснення базова внутрішньоклітинна реакція інгібується в присутності зворотного агоніста, щонайменше, на 30%, в інших варіантах здійснення, щонайменше, на 50%, і в інших варіантах здійснення, щонайменше, на 75%, в порівнянні з базовою реакцією у відсутність зворотного агоніста.

Термін «ліганд» означає ендogenous, природну молекулу, специфічну до ендogenous природного рецептора.

Фраза «розлади, пов'язані з метаболізмом», призначена для включення, але, не обмежуючись ними, дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну, огрядності, порушеної толерантності до глюкози, атероматозного захворювання, гіпертензії, удару, синдрому X, захворювання серця і діабету типу 2.

Як використовується в даному описі, терміни «модулювати або модулювання» означають вказівку збільшення або зменшення кількості, якості, реакції або впливів конкретної активності, функції або молекул.

Термін «фармацевтична композиція» означає композицію для профілактики, лікування або контролю хворобливого статусу або стану, що містить, щонайменше, одну активну сполуку, наприклад, сполуку даного винаходу, включаючи її фармацевтично прийнятні солі, фармацевтично прийнятні сольвати і/або гідрати, і, щонайменше, один фармацевтично прийнятний носій.

Термін «фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт» означає будь-яку по суті інертну речовину, що використовується як розріджувач або розчинник для сполуки даного винаходу.

Фраза «терапевтично ефективна кількість», як використовується в даному описі, відноситься до кількості активної сполуки або фармацевтичного агента, яка викликає біологічну або медичну реакцію в тканині, системі, у тварини, індивідуума або людини, яка розглядається дослідником, ветеринаром, лікарем або іншим клініцистом, яка включає одну або більше з наступних:

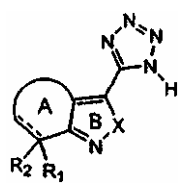
(1) Профілактика захворювання; наприклад, профілактика захворювання, стану або розладів у індивідуума, який може бути схильний до захворювання, стану або розладу, але ще не потерпає або не демонструє патології або симптоматології захворювання,

(2) Інгібування захворювання; наприклад, інгібування захворювання, стану або розладів у індивідуума, який потерпає або виявляє патологію або симптоматологію захворювання, стану або розладу (тобто, припинення подальшого розвитку патології і/або симптоматології), і

(3) Полегшення захворювання; наприклад, полегшення захворювання, стану або розладу у індивідуума, який потерпає або виявляє патологію або симптоматологію захворювання, стану або розладу (тобто, зворотний розвиток патології і/або симптоматології).

Один з аспектів даного винаходу охоплює тетразольні похідні, формули (I):





де  
X являє собою NH або O;

R<sub>1</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу;

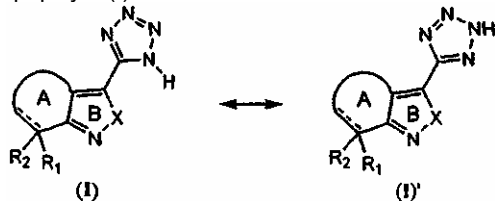
R<sub>2</sub> вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу; або R<sub>2</sub> відсутній;

— являє собою одинарний зв'язок, коли R<sub>2</sub> присутній, або — являє собою подвійний зв'язок, коли R<sub>2</sub> відсутній; і

кільце A являє собою 5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце або 5-, 6- або 7-членне гетероциклічне кільце, необов'язково заміщене 1-4 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, гідрокси, тіокси, ціано, нітро, C<sub>1-4</sub>галогеналкілу, аміно, C<sub>1-4</sub>алкіламіно, C<sub>2-8</sub>діалкіламіно, C<sub>1-4</sub>алкілу, C<sub>1-4</sub>алкокси, C<sub>2-4</sub>алкенілу, C<sub>2-4</sub>алкінілу, C<sub>3-5</sub>циклоалкілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкокси, C<sub>1-4</sub>алкілтіо, C<sub>1-4</sub>алкілсульфінілу, C<sub>1-4</sub>алкілсульфонілу, C<sub>1-4</sub>галогеналкілтіо, C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфінілу і C<sub>1-4</sub>галогеналкілсульфонілу; або

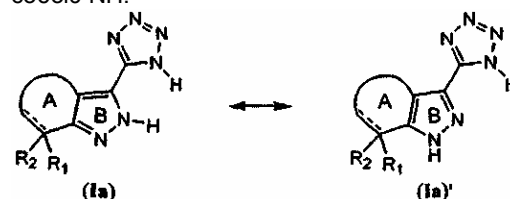
їх фармацевтично прийнятну сіль, сольват або гідрат.

Сполуки даного винаходу можуть існувати в різних таутомерних формах. Наприклад, фахівцеві в даній галузі буде зрозуміло, що тетразоли можуть існувати, щонайменше, в двох таутомерних формах, і хоч формула (I) представляє одну форму, мається на увазі, що даним винаходом охоплюються всі таутомерні форми; як ілюстрація, нижче показані два можливих таутомери тетразолу в формулі (I):



Інший приклад включає варіанти втілення, де X являє собою NH. Фахівцеві в даній галузі зрозуміло, що піразольні гетероцикли можуть існувати, щонайменше, в двох таутомерних формах, і хоч формула (I) представляє одну форму, мається на увазі, що даний винахід охоплює всі таутомерні

форми; як ілюстрація нижче показані два можливих таутомери піразолу формули (I), де X являє собою NH:



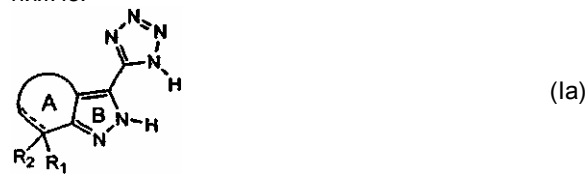
Крім того, зрозуміло, що, коли X являє собою NH, тоді можуть існувати таутомери як для кільця B, так і для тетразольного кільця, в поєднанні. Зрозуміло, що всі таутомери, які можуть існувати для сполук, описаних в даному описі, входять в об'єм даного винаходу.

Даний винахід також охоплює діастереомери, а також оптичні ізомери, наприклад, суміші енантіомерів, включаючи рацемічні суміші, а також індивідуальні енантіомери і діастереомери, які виникають як наслідок структурної асиметрії в певних сполуках даного винаходу. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою R ізомери. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою S ізомери. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою рацемічні суміші.

Зрозуміло, що певні ознаки даного винаходу, які, для ясності, описані в контексті окремих варіантів здійснення, можуть також передбачатися в поєднанні в єдиному варіанті здійснення. Навпаки, різні ознаки даного винаходу, які, для ясності, описані в контексті єдиного варіанту здійснення, можуть також передбачатися окремо або в будь-якому придатному для використання підпоєднанні.

Як використовується в даному описі, "заміщений" вказує на те, що, щонайменше, один атом водню хімічної групи замінений неводневими замісниками або групою. Коли хімічна група є "заміщеною", вона може бути замінена аж до повного заміщення; наприклад, метильна група може бути замінена 1, 2 або 3 замісниками, метиленова група може бути замінена 1 або 2 замісниками, фенільна група може бути замінена 1, 2, 3, 4 або 5 замісниками і т. п.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де X являє собою NH. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Ia), як ілюструється нижче:



де кожна змінна в формулі (Ia) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполуки формули (I), де X являє собою NH, R<sub>1</sub> являє собою H або гідрокси; R<sub>2</sub> являє собою H або відсутній; — являє собою одинарний зв'язок, коли R<sub>2</sub> являє собою H, або — являє собою подвійний зв'язок, коли R<sub>2</sub> відсутній; і кільце A являє собою 5-членне карбоциклічне к-

льце або 5-членне гетероциклічне кільце, необов'язково заміщене 1-4 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де X являє собою O. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Ic), як ілюструється нижче:



де кожна змінна в формулі (Ic) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де  $R_1$  вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси,  $C_{1-4}$ галогеналкілу,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси,  $C_{2-4}$ алкенілу,  $C_{2-4}$ алкінілу,  $C_{1-4}$ алкілтіо і  $C_{1-4}$ галогеналкокси. У деяких варіантах здійснення  $R_1$  вибирають з групи, яка складається з H, галогену,  $C_{1-4}$ галогеналкілу і  $C_{1-4}$ алкілу. У деяких варіантах здійснення  $R_1$  являє собою F. В деяких варіантах здійснення  $R_1$  являє собою H.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де  $R_2$  вибирають з групи, яка складається з H, галогену, гідрокси,  $C_{1-4}$ галогеналкілу,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси,  $C_{2-4}$ алкенілу,  $C_{2-4}$ алкінілу,  $C_{1-4}$ алкілтіо і  $C_{1-4}$ галогеналкокси. У деяких варіантах здійснення  $R_2$  вибирають з групи, яка складається з H, галогену,  $C_{1-4}$ галогеналкілу і  $C_{1-4}$ алкілу. У деяких варіантах здійснення  $R_2$  являє собою F. В деяких варіантах здійснення  $R_2$  являє собою H.

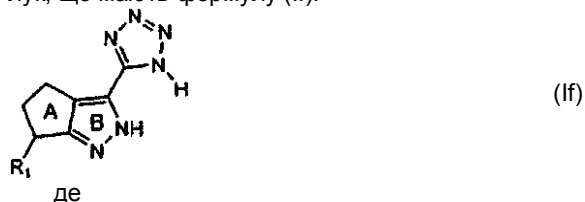
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де  $R_1$  і  $R_2$ , обидва, являють собою H.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце A являє собою 5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце. Термін "5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце" означає кільце, що містить 5, 6 або 7 атомів вуглецю в кільці, де два атоми вуглецю в кільці можуть бути розділені між кільцями A і B. Кільце A може бути насиченим (тобто без подвійних зв'язків в кільці), ненасиченим (тобто, що містить подвійні зв'язки в кільці) або являти собою їх поєднання. В деяких варіантах здійснення - являє собою одинарний зв'язок і  $R_2$  присутній. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Ie), як ілюструється нижче:



де кожна змінна в формулі (Ie) має таке ж значення, як описано вище і нижче. Один з варіантів

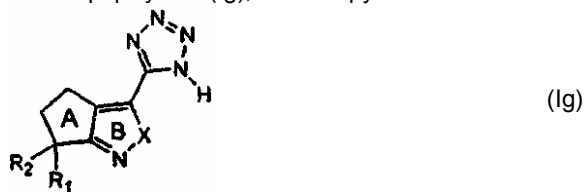
здійснення даного винаходу відноситься до сполук, що мають формулу (If):



де

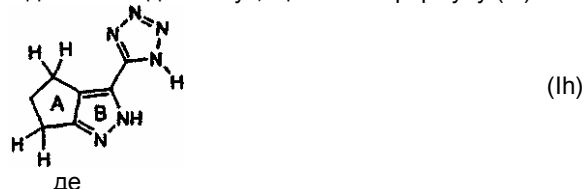
$R_1$  являє собою H або гідрокси; і кільце A необов'язково заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або їх фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату.

У деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 5-членне карбоциклічне кільце. В одному з варіантів здійснення кільце A являє собою 5-членне карбоциклічне кільце і може бути представлене формулою (Ig), як ілюструється нижче:



де кожна змінна в формулі (Ig) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення  $R_1$  являє собою  $C_{1-4}$ алкокси. У деяких варіантах здійснення  $R_1$  являє собою  $C_{1-4}$ алкіл. У деяких варіантах здійснення  $R_1$  і  $R_2$ , обидва, являють собою H.

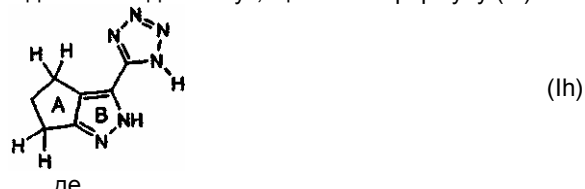
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук, що мають формулу (Ih):



де

кільце A необов'язково заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або їх фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату.

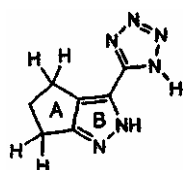
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук, що мають формулу (Ih):



де

кільце A заміщене 1 або 2 замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, n-пропілу, n-бутилу,  $C_{1-4}$ алкокси і  $C_{3-5}$ циклоалкілу; або їх фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату.

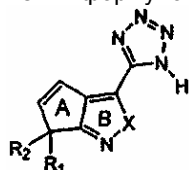
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук, що мають формулу (Ih):



(Ih)

де  
 кільце А є незаміщеним або заміщене етилом;  
 або їх фармацевтично прийнятної солі, сольовату  
 або гідрату.

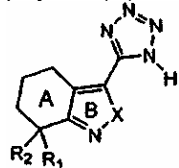
В одному з варіантів здійснення кільце А являє собою 5-членне карбоциклічне кільце і, крім того, є ненасиченим (тобто, має подвійний зв'язок в кільці). Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Ii), як ілюструється нижче:



(Ii)

де кожна змінна в формулі (Ii) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче.

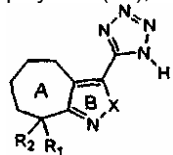
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце А являє собою 6-членне карбоциклічне кільце. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Ik), як ілюструється нижче:



(Ik)

де кожна змінна в формулі (Ik) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче.

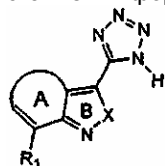
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце А являє собою 7-членне карбоциклічне кільце. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Im), як ілюструється нижче:



(Im)

де кожна змінна в формулі (Im) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче.

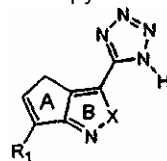
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце А являє собою 5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце, як описано вище. У деяких варіантах здійснення  $\equiv$  являє собою подвійний зв'язок і  $R_2$  відсутній. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (Io), як ілюструється нижче:



(Io)

де кожна змінна в формулі (Io) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення кільце А являє собою

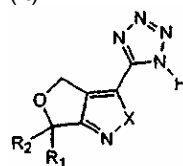
5-членне карбоциклічне кільце. Це варіант здійснення може бути представлений формулою (Iq), як ілюструється нижче:



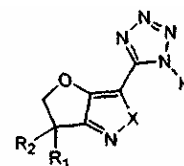
(Iq)

де кожна змінна в формулі (Iq) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення кільце А являє собою 6-членне карбоциклічне кільце. У деяких варіантах здійснення кільце А являє собою 6-членне карбоциклічне кільце при умові, що кільце А не є ароматичним. У деяких варіантах здійснення кільце А являє собою 7-членне карбоциклічне кільце.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце А являє собою 5-, 6- або 7-членне гетероциклічне кільце. Термін "5-, 6- або 7-членне гетероциклічне кільце" означає 5-, 6- або 7-членне карбоциклічне кільце, як описано вище, де 1, 2 або 3 атоми вуглецю в кільці, які не розділяються між кільцями А і В, незалежно заміни -O-, -S-, -S(O)- або -S(O)<sub>2</sub>-. Для ясності, як описано в даному описі вище, кільце А може бути насиченим (тобто без подвійних зв'язків в кільці), ненасиченим (тобто, що містить подвійні зв'язки в кільці) або являти собою їх поєднання. У деяких варіантах здійснення  $\equiv$  являє собою одинарний зв'язок, і  $R_2$  присутній. У деяких варіантах здійснення кільце А являє собою 5-членне гетероциклічне кільце. У деяких варіантах здійснення один атом вуглецю в кільці з 5-членного гетероциклічного кільця замінений атомом кисню в кільці; ці варіанти здійснення можуть бути представлені наступними формулами (Is) і (It):



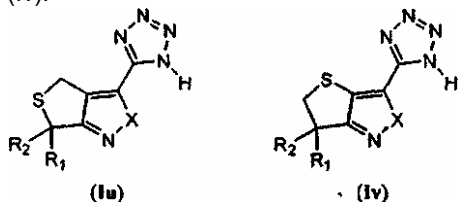
(Is)



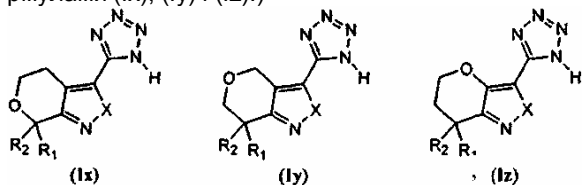
(It)

де кожна змінна в формулах (Is) і (It) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Is), де Х являє собою NH. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Is), де Х являє собою O (атом кисню). У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (It), де Х являє собою NH. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (It), де Х являє собою O (атом кисню). У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Is), де  $R_1$  являє собою C<sub>1-4</sub>алкіл і  $R_2$  являє собою H. В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Is), де як  $R_1$ , так і  $R_2$  являють собою H. В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (It), де  $R_1$  являє собою C<sub>1-4</sub>алкіл і  $R_2$  являє собою H. В деяких варіантах здійснення спо-

луки даного винаходу являють собою формулу (It), де як  $R_1$ , так і  $R_2$  являють собою H. В деяких варіантах здійснення один атом вуглецю в кільці з 5-членного гетероциклічного кільця замінений атомом сірки в кільці; ці варіанти здійснення можуть бути представлені наступними формулами (Iu) і (Iv):



де кожна змінна в формулах (Iu) і (Iv) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення атом сірки в кільці, в формулах (Iu) і (Iv), додатково окислений до сульфоксиду (тобто,  $-S(O)-$ ). У деяких варіантах здійснення атом сірки в кільці, в формулах (Iu) і (Iv), додатково окислений до сульфону (тобто,  $-S(O)_2-$ ). В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Iu), де X являє собою NH. В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Iu), де X являє собою O (атом кисню). В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Iv), де X являє собою NH. В деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою формулу (Iv), де X являє собою O (атом кисню). В деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 6-членне гетероциклічне кільце. В деяких варіантах здійснення один з атомів в кільці 6-членного гетероциклічного кільця замінений атомом кисню в кільці; ці варіанти здійснення можуть бути представлені наступними формулами (Ix), (Iy) і (Iz):



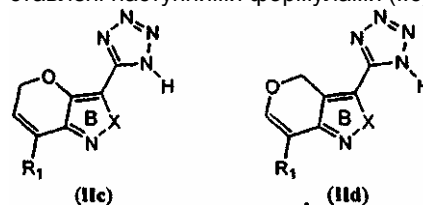
де кожна змінна в формулах (Ix), (Iy) і (Iz) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 7-членне гетероциклічне кільце.

Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I), де кільце A являє собою 5-, 6- або 7-членне гетероциклічне кільце. У деяких варіантах здійснення  $\text{---}$  являє собою подвійний зв'язок і  $R_2$  відсутній. У деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 5-членне гетероциклічне кільце. Цей варіант здійснення може бути представлений формулою (IIa), як ілюструється нижче:



де кожна змінна в формулі (IIa) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче, і Z являє собою  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$  або  $-S(O)_2-$ .

У деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 6-членне гетероциклічне кільце. У деяких варіантах здійснення 6-членне гетероциклічне кільце являє собою дигідропіранільне кільце (тобто, один атом вуглецю в кільці замінюється атомом кисню); ці варіанти здійснення можуть бути представлені наступними формулами (IIc) і (IId):



де кожна змінна в формулах (IIc) і (IId) має таке ж значення, як описано в даному описі вище і нижче. У деяких варіантах здійснення кільце A являє собою 7-членне гетероциклічне кільце.

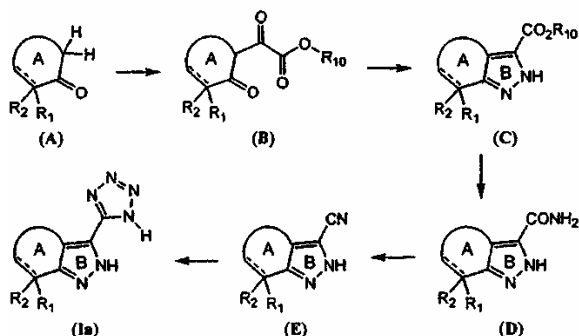
Один з варіантів здійснення даного винаходу відноситься до сполук формули (I) і підгруп, описаних вище, де кільце A необов'язково заміщене замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену, гідрокси,  $C_{1-4}$ галогеналкілу,  $C_{1-4}$ алкілу,  $C_{1-4}$ алкокси,  $C_{2-4}$ алкенілу,  $C_{2-4}$ алкінілу,  $C_{1-4}$ алкілітіо і  $C_{1-4}$ галогеналкокси. У деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене замісниками, вибраними з групи, яка складається з галогену,  $C_{1-4}$ галогеналкілу і  $C_{1-4}$ алкілу. В деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене F. В деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене 1-4 замісниками. В деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене 1-3 замісниками. У деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене 1-2 замісниками. У деяких варіантах здійснення кільце A необов'язково заміщене 1 замісником. У деяких варіантах здійснення кільце A є незаміщеним.

Хімія даного винаходу  
Синтез сполук формули (I)

Одним з варіантів здійснення даного винаходу є синтетичний спосіб отримання нових тетразолів формули (I). Сполуки даного винаходу можуть бути легко отримані відповідно до цього нового способу, що використовує різні вихідні речовини, які є комерційно доступними або легко отримуються за допомогою умов синтезу, які повинні бути відомі фахівцям в даній галузі. У схемах синтезу, що ілюструються, наведених нижче, якщо не вказано інакше, помічені замісники мають такі ж значення, як наведено у визначеннях сполуки, описаних вище для формули (I).

Один з способів, який може використовуватися для отримання сполук даного винаходу, де X являє собою NH (тобто, кільце B являє собою піразол), використовує проміжні сполуки, отримані з циклічного кетону формули (A), як проілюстровано на схемі реакції I, нижче:

Схема I

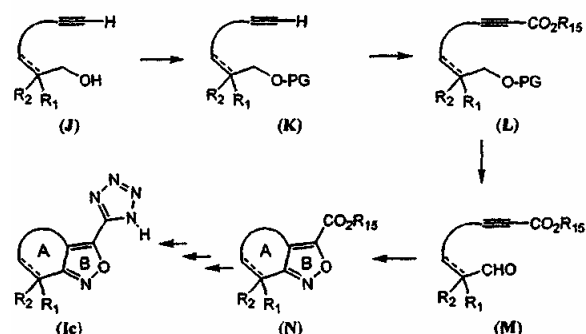


Сполуки формули (Ia) можуть бути отримані взаємодією циклічного кетону формули (A) з діалкілоксалатом формули (C(O)OR<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, де R<sub>10</sub> являє собою C<sub>1-8</sub>алкіл, в присутності основи і полярного розчинника, такого як, але не обмежуючись ними, C<sub>1-8</sub>алканол, метанол, етанол, бутанол, пентанол, гексанол, 2-метоксіетанол, ізопропанол. ТГФ, ДМФА і т.п., з отриманням кетоефіру формули (B). Відповідні основи включають: алкоксиди лужних металів, наприклад, метоксид натрію, етоксид натрію, етоксид калію, трет-бутоксид калію і т.п.; амід лужних металів (тобто лужний метал-NR<sub>11</sub>, де R<sub>11</sub> являє собою C<sub>1-8</sub>алкіл або силіл-C<sub>1-8</sub>алкіл), наприклад, літійдіізопропіламід, літійгексаметилдисилазан, натрійгексаметилдисилазан, калійгексаметилдисилазан і т.п. Кетоефір (B) піддають взаємодії з гідразом, при цьому може використовуватися або захищений, або незахищений гідразин, у відповідних умовах, з отриманням складного ефіру піразолу формули (C). Необов'язково, піразол може бути захищений, наприклад, за допомогою бензильної групи і т.п. Складний ефір перетворюють в амід формули (D) з використанням способів, відомих фахівцям в даній галузі, наприклад, обробкою аміаком в полярному розчиннику при температурі від кімнатної до температури кипіння розчинника. Амід (D) піддають взаємодії з дегідратуючим реагентом, таким як оксихлорид фосфору, пентоксид фосфору, тіонілхлорид і т.п., або як таким, або в присутності апротонного розчинника, такого як ацетонітрил, ДМФА і т.п., з отриманням нітрилу (E). Нітрил (E) піддають взаємодії з азидом (тобто, N<sub>3</sub>) або еквівалентом азиду, таким як азид натрію, азид калію, триметилсилілазид (тобто, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SiN<sub>3</sub>) і т.п., з отриманням тетразолу формули (Ia). У деяких випадках, може бути корисним включити присутність кислоти Льюїса, наприклад, AlCl<sub>3</sub>, ZnBr<sub>2</sub> і т.п., у відповідному розчиннику, такому як ДМФА і т.п..

Один з способів, який може використовуватися для отримання сполук формули (I), де X являє собою атом кисню в кільці (тобто, кільце B являє

собою ізоксазол), використовує проміжні сполуки, отримані з алкінілового спирту формули (J), як проілюстровано на схемі реакції II, нижче:

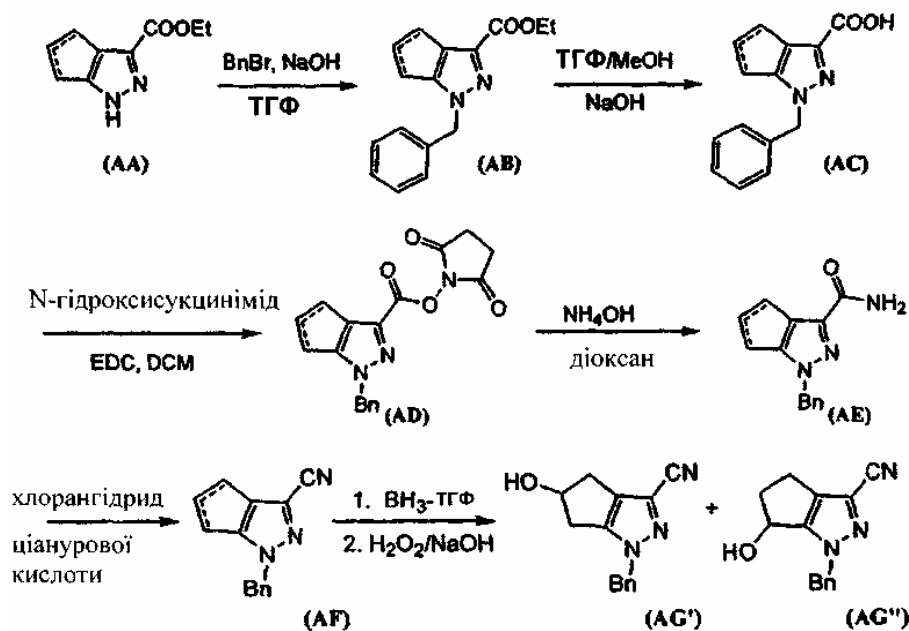
Схема II



Сполуки формули (Ic) можуть бути отримані за допомогою захисту алкінілового спирту формули (J) за допомогою відповідної захисної групи, наприклад, ТГФ, TBDMS і т.п., з отриманням алкінілу (K). Алкініл (K) перетворюють в складний алкініловий ефір формули (L, де R<sub>15</sub> являє собою C<sub>1-8</sub>алкіл) обробкою сильною основою, з подальшою взаємодією з C<sub>1-8</sub>алкілхлорформіатом. Відповідна сильна основа являє собою алкіллітій, наприклад, але, не обмежуючись ними, н-бутиллітій, трет-бутиллітій і т.п. Проміжну сполуку (L) згодом піддають зняттю захисту з використанням способів, відомих фахівцям в даній галузі, наприклад, група ТГФ, як правило, може бути видалена обробкою кислотою (наприклад, PTSA), а група TBDMS, як правило, може бути видалена обробкою тетраалкіламонійфторидом. Отриманий спирт окислюється до альдегіду (M) з використанням різних способів, наприклад, періодинану Десса-Мартіна (тобто, 1,1,1-триацетокси-1,1-дигідро-1,2-бензідоксол-3(1H)-ону), окислення по Сверну, окислення Корі з допомогою NCS або будь-якого іншого відповідного способу, як описано у Hudlicky, M., в Oxidations in Organic Chemistry, ACS Monograph 186 (1990). Альдегід (M) обробляють гідроксиламіном в присутності основи, потім NCS і основою, з отриманням складного алкілового ефіру ізоксазолу (N). Ізоксазол (N) може бути перетворений в сполуки формули (Ic) способом, по суті аналогічним описаному для схеми реакції I, (тобто, -CO<sub>2</sub>-C<sub>1-8</sub>алкіл→CONH<sub>2</sub>→C≡N→тетразол).

Один з способів, який може використовуватися для отримання певних сполук формули (I), використовує проміжну сполуку (AJ), як проілюстровано на схемах реакцій III і IV, нижче:

## Схема III

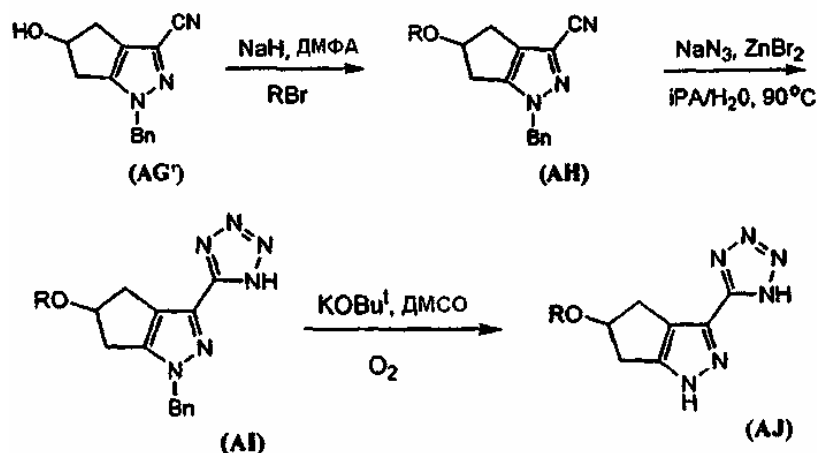


Сполуки структури (AJ) (де R являє собою  $\text{C}_{1-4}$ алкіл,  $\text{C}_{2-4}$ алкеніл і  $\text{C}_{2-4}$ алкініл) можуть бути отримані обробкою ненасиченого піразолу (AA) бензилбромідом у відповідному розчиннику, типу ТГФ, в присутності NaOH як основи, з отриманням N-бензилпіразолу (AB). Піразол (AB) може бути омилений з використанням способів, відомих фахівцям в даній галузі, наприклад, обробкою водним розчином гідроксиду натрію в суміші розчинників, такий як ТГФ/MeOH. Кислоту (AC) зв'язують з N-гідроксисукцинимідом з використанням реагенту зв'язування, такого як EDC. Складний ефір (AD) перетворюють в амід (AE) обробкою концентрованим розчином  $\text{NH}_4\text{OH}$  в розчиннику, такому як 1,4-діоксан. Амід (AE) може бути підданий взаємодії з

дегідратуючим реагентом, таким як ціанурхлорид, трифтороцтовий ангідрид, тіонілхлорид і т.п., в присутності апротонного розчинника, такого як ДМФА, з отриманням нітрилу (AF). Нітрил (AF) обробляють надлишком розчину борану-ТГФ в розчиннику, подібному до ТГФ, при низькій температурі, з подальшим окисненням перекисом водню в присутності гідроксиду натрію, з отриманням суміші спиртів 1:1, показаних як (AG') і (AG'').

Використовуючи або спирт (AC'), або спирт (AG''), можна отримати різний простий ефір. Репрезентативний синтез показаний на схемі реакції IV, з використанням спирту (AG'). Зрозуміло, що подібна ж схема синтезу може використовуватися, виходячи з спирту (AG'').

## Схема IV



Сполуки структури (AH) можуть бути отримані обробкою спиртової проміжної сполуки (AG') надлишком алкілгалогеніду в присутності основи, та-

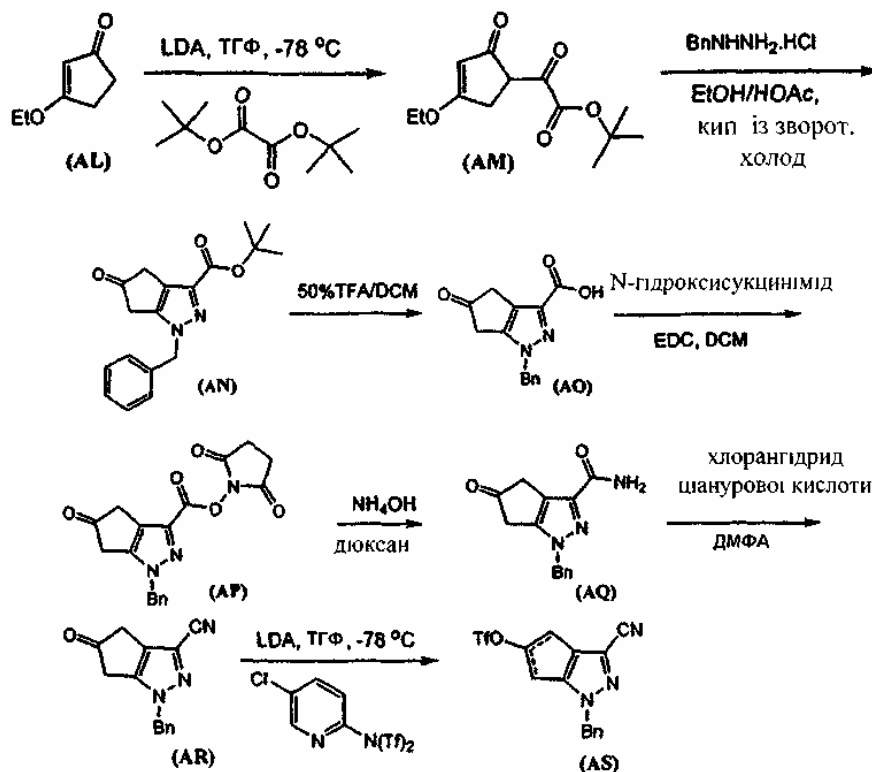
кої як гідрид натрію, в апротонному розчиннику, такому як ДМФА. Нітрил (AH) піддають взаємодії з азидом, таким як азид натрію, в присутності кисло-

ти Льюїса, такої як бромід цинку, з отриманням тетразолу структури (AI). Кінцеві сполуки можуть бути отримані за допомогою видалення бензильної захисної групи в умовах окислення в розчиннику, подібному до ДМСО, з використанням основи,

такої як трет-бутоксид калію, і газоподібного кисню.

Один з способів, який може використовуватися для отримання певних сполук формули (I), використовує проміжну сполуку (AS), як проілюстровано на схемі реакції V, нижче:

Схема V

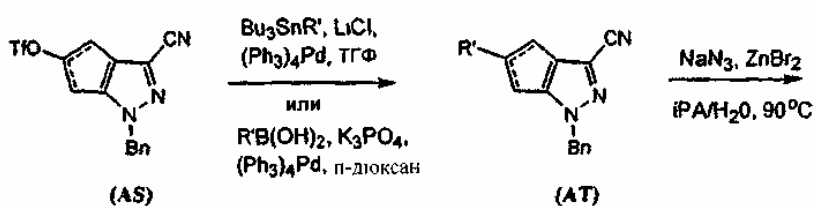


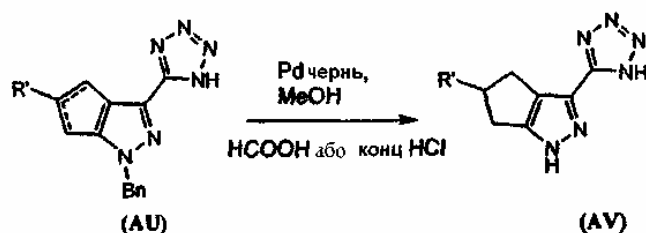
Сполуки структури (AV) можуть бути отримані з 3-етоксичиклопентенону обробкою діалкілоксалатом, таким як ди-трет-бутилоксалат або діетилоксалат, в присутності не-нуклеофільної основи, такої як  $\text{LDA}$  або  $\text{LHMDS}$ , в розчиннику, такому як  $\text{THF}$ , з отриманням кетоефіру (AM). Кетоефір (AM) піддають взаємодії з бензилгідрaziном при кипінні із зворотним холодильником, в полярному розчиннику, такому як етанол або метанол, що містить крижану оцтову кислоту, з отриманням піразолу (AN). Альтернативно, кетоефір (AM) може бути підданий взаємодії з гідрaziном, з подальшим алкілюванням піразолу з допомогою бензилброміду, з

використанням карбонату цезію як основи, в апротонному розчиннику, такому як  $\text{DMF}$ . Складний ефір піразолу (AN) може бути перетворений в нітрil (AR), з використанням послідовності стадій, подібно описаній для (AC). Кетон (AR) перетворюють у вінілтрифлат (AS) з використанням реагенту Коммінса в присутності  $\text{LDA}$  в розчиннику, такому як  $\text{THF}$ .

Використовуючи сполуки (AS), різні замісники (де  $\text{R}'$  являє собою  $\text{C}_{1-4}$ алкіл,  $\text{C}_{2-4}$ алкеніл і  $\text{C}_{2-4}$ алкініл) можуть вводитися по положенню C-5, як показано на схемі реакції VI.

Схема VI





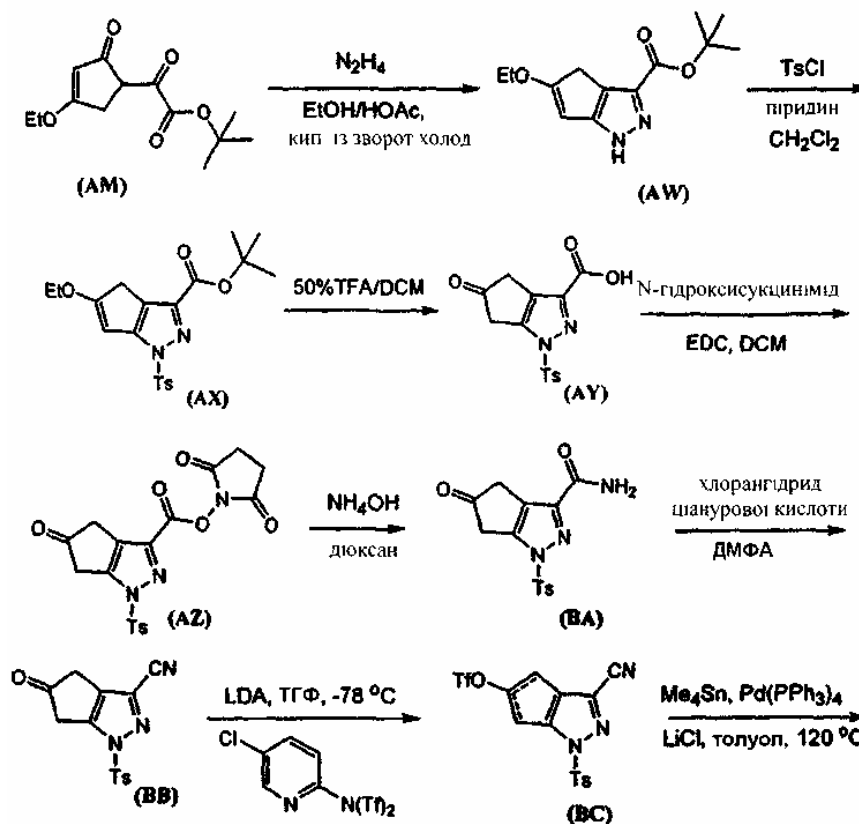
Трифлат (AS) може бути підданий взаємодії з відповідним станновим реагентом в присутності основи, такої як хлорид літію, і каталізатора, такого як тетракистрифенілфосфінпаладій (0), у відповідному розчиннику, такому як ТГФ або толуол. Альтернативно, трифлат (AS) може бути підданий взаємодії з відповідною алкенілбороною кислотою в присутності основи, такої як фосфат калію, і каталізатора, такого як тетракистрифенілфосфінпаладій (0), у відповідному розчиннику, такому як 1,4-діоксан. Нітрил (AT) піддають взаємодії з азидом, таким як азид натрію, в присутності кислоти Льюїса, такої як бромід цинку, з отриманням тетразолу структури (AU). Кінцеві сполуки отримують за допомогою видалення бензильної захисної групи, яке може здійснюватися в умовах відновлення

з використанням паладієвої черні в полярному розчиннику, такому як метанол або етанол, і кислоти, такої як мурашина кислота або концентрована хлористоводнева кислота.

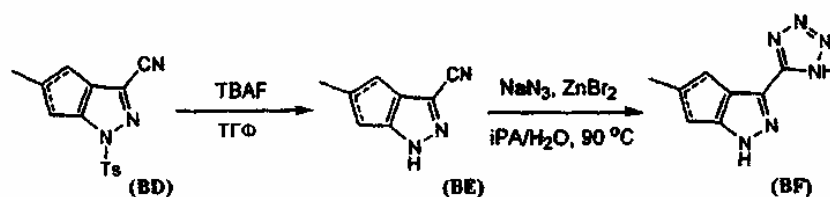
Альтернативно, спирт (AC) може бути фторований з використанням способів, відомих фахівцям в даній галузі, наприклад, з використанням DAST [трифторид (діетиламіно)сірки], з отриманням сполуки фтору, яка може бути оброблена до отримання її тетразольного похідного і піддана зняттю захисту з використанням способів, описаних вище.

Один з способів, який може бути використаний для отримання певних сполук формули (I), проілюстрований на схемі реакції VII, нижче:

Схема VII







Сполука структури (BF) може бути отримана з кетоефіру (AM) взаємодією з гідазингідратом в полярному розчиннику, такому як етанол, що містить крижану оцтову кислоту, з отриманням піразолу (AW). Піразол (AW) може бути підданий взаємодії з сульфонілхлоридом, таким як п-толуолсульфонілхлорид, в розчиннику, такому як  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , в присутності основи, такої як піридин, з отриманням N-сульфонованого похідного (AX). Складний ефір піразолу (AX) може бути підданий зняттю захисту в кислотних умовах, використовуючи кислоту, таку як TFA, в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , з утворенням (AY). Піразолова кислота (AY) може бути перетворена в нітрил (BB) з використанням послідовності стадій, подібно описаній для (AC). Кетон (BB) може бути перетворений у вінілтрифлат (BC) з використанням реагенту Коммінза, в присутності основи, такої як LDA, в розчиннику, такому як ТГФ.

Трифлат (BC) може бути зв'язаний з тетраметилоловом в присутності основи, такої як хлорид літію, і каталізатора, такого як тетракистрифенілфосфінпаладій (0), у відповідному розчиннику, такому як ТГФ або толуол. Сульфонільна група п-толуолу може бути видалена взаємодією з розчином тетрабутиламонійфториду в розчиннику, такому як ТГФ, з отриманням піразолу (BE). Кінцеву сполуку отримують взаємодією нітрилу (BE) з азидом, таким як азид натрію, в присутності кислоти Льюїса, такої як бромід цинку, з отриманням тетраолу (BF).

Різні перетворення використовуваних органічних груп і захисних груп можуть бути здійснені за допомогою ряду методів, інших, ніж описані вище. Посилання на інші методи синтезу, які можуть використовуватися для отримання проміжних сполук або сполук, описаних вище, можна знайти, наприклад, у [Smith, M.B.; and March, J., в *Advanced Organic Chemistry*, 5th Edition, Wiley-Interscience (2001); Larock, R.C., *Comprehensive Organic Transformations*, A Guide to Functional Group Preparations, 2nd Edition, VCH Publishers, Inc. (1999), або Wuts, P.G.M.; Greene, T.W.; *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley and Sons, (1999)], які включені в даний опис за допомогою посилань у всій їх повноті.

Сполуки формули (I) можуть мати один або декілька хіральних центрів, і з цієї причини, вони існують як енантіомери або діастереомери. Даний винахід, як вважається, поширюється на всі такі енантіомери, діастереомери і їх суміші, включаючи рацемати. Формула (I) і формули, описані вище, призначені для представлення всіх індивідуальних ізомерів і їх сумішей, якщо не стверджується або не вказано інакше.

Рацемічні суміші можуть бути розділені на оптично чисті енантіомери за допомогою відомих методів, наприклад, шляхом розділення їх діастереомерних солей за допомогою оптично активної кислоти і вивільнення оптично активної аміної сполуки обробкою основою. Інший метод розділення рацематів на оптично чисті енантіомери засновується на хроматографії на оптично активній матриці або на хіральній підкладці. Певні рацемічні сполуки даного винаходу можуть, таким чином, бути розділені на їх оптичні антиподи, наприклад, за допомогою фракціонованої кристалізації, наприклад, d- або l-(тарtratних, манделатних або камфорсульфонатних) солей. Сполуки даного винаходу також можуть бути розділені за допомогою утворення діастереомерних амідів або складного ефіру шляхом взаємодії сполук даного винаходу з оптично активною активованою карбоною кислотою, наприклад, отриманою з (+) або (-) фенілаланіну, (+) або (-) фенілгліцину, (+) або (-) камфанової кислоти або шляхом утворення діастереомерних карбаматів шляхом взаємодії сполук даного винаходу з оптично активним хлорформіатом або подібним, з подальшим гідролізом.

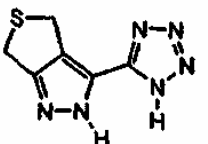
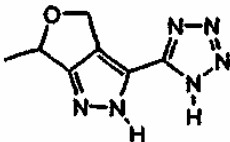
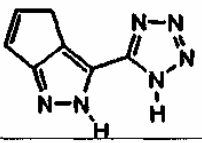
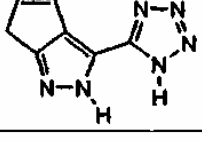
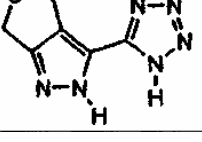
Додаткові методи розділення оптичних ізомерів, відомі фахівцям в даній галузі, можуть використовуватися і будуть очевидні фахівцям в даній галузі. Такі способи включають способи, що обговорюються [J. Jaques, A. Collet, and S. Wilen в *"Enantiomers, Racemates, and Resolutions"*, John Wiley and Sons, New York (1981)].

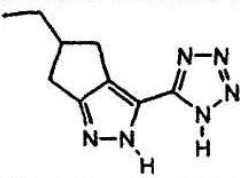
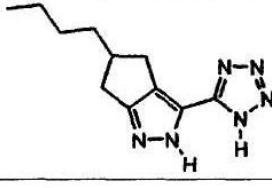
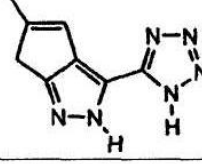

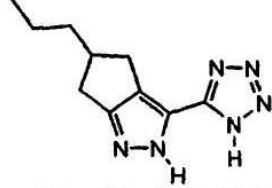
Зрозуміло, що хімічні механізми, описані вище, є репрезентативними і не призначаються для обмеження будь-яким чином.

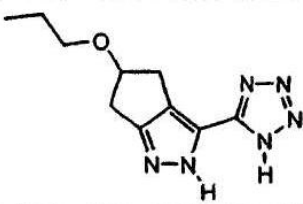
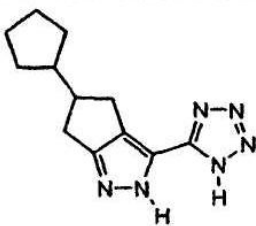
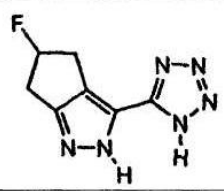
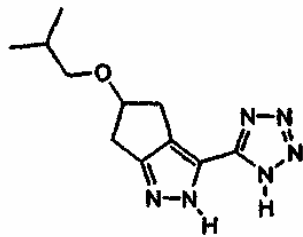
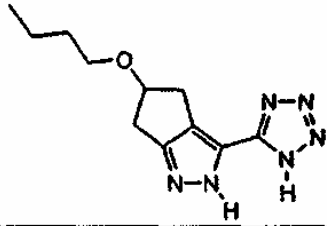
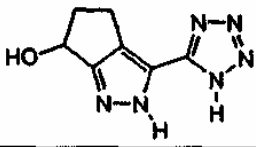
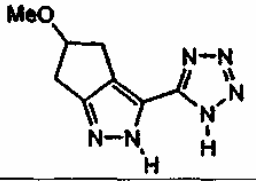
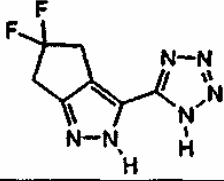
Репрезентативні приклади сполук формули (I) наведені нижче в таблиці А.

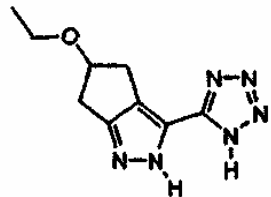
Таблиця А

№ Спол.	Структура	Хімічна назва
1		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол

2		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4H-тієно[3,4-с]піразол
3		6-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4H-фуρο[3,4-с]піразол
4		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол
5		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол
6		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4H-фуρο[3,4-с]піразол

7		5-етил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол
8		5-бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол
9		5-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол
10		5-метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол
11		5-пропіл-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол

12		5-пропокси-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6- тетрагідроциклопентапіразол
13		5-циклопентил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6- тетрагідроциклопентапіразол
14		5-фтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6- тетрагідроциклопентапіразол
15		5-бутокси-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол
16		5-бутокси-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол
17		3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6- тетрагідроциклопентапіразол-6-ол
18		5-метокси-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол
19		5,5-дифтор-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол

20		5-етокси-3-(1H-тетразол-5-іл)- 2,4,5,6-тетрагідротетрагідропіразол
----	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------

#### Методи і застосування

Сполуки даного винаходу є корисними при інгібуванні продукування вільних жирних кислот. Крім того, сполуки даного винаходу є корисними при інгібуванні продукування вільних жирних кислот, в той же час, приводячи до значно більш низьких побічних впливів гіперемії або, в деяких випадках, до відсутності таких впливів, що можна виміряти, ці впливи звичайно зв'язуються з введенням ніацину. Сполуки даного винаходу, як правило, не спричиняють розширення судин при дозах, що досягають приблизно 300мг/кг маси тіла, що вимірюються з використанням методів, відомих в даній галузі, таких як спосіб, показаний в прикладі 7.

У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу по суті не викликають вимірюваної гіперемії у індивідуума, в порівнянні з дозою ніацину, по суті, з такою ж ефективністю. В інших варіантах здійснення сполуки даного винаходу викликають менш, ніж приблизно 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% або 1% від гіперемії, що вимірюється, у індивідуума, в порівнянні з дозою ніацину з по суті такою ж ефективністю.

Сполуки даного винаходу можуть модулювати активність рецептора RUP25. Мається на увазі, що термін "модулювати" відноситься до здатності збільшувати або зменшувати активність рецептора. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу можуть використовуватися в способах модулювання рецептора RUP25 за допомогою контактування рецептора з одним або декількома сполуками, як описано вище. В інших варіантах здійснення сполуки даного винаходу можуть використовуватися в методах модулювання рецептора RUP25 для лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, у індивідуума, що потребує такого модулювання, що включає контактування рецептора з терапевтично ефективною кількістю сполуки формули (I). У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу збільшують активність рецептора RUP25. В інших варіантах здійснення сполуки даного винаходу являють собою агоністи рецептора RUP25. Термін "агоніст", як використовується в даному описі, відноситься до агентів, які можуть стимулювати активність рецептора (тобто, активувати), подібного до рецептора RUP25. У деяких варіантах здійснення сполуки даного винаходу є частковими агоністами рецептора RUP25.

Інший аспект даного винаходу відноситься до способів лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, що включає введення індивідууму, що потребує такого лікування, терапевтично ефективною кількістю сполуки формули (I).

Інший аспект даного винаходу відноситься до способів підвищення рівнів HDL у індивідуума, що включають введення вказаному індивідууму терапевтично ефективною кількістю сполуки формули (I).

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування організму людини або тварини за допомогою терапії.

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії.

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії, де вказаний розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну, огрядності, порушеної толерантності до глюкози, атероматозного захворювання, гіпертензії, удару, синдрому X, захворювання серця і діабету типу 2.

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом, організму людини або тварини за допомогою терапії, де вказаний розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну і діабету типу 2.

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі лікування атеросклерозу організму людини або тварини за допомогою терапії.

Інший аспект даного винаходу відноситься до сполук формули (I), як описано вище, для застосування в способі підвищення рівнів HDL організму людини або тварини за допомогою терапії.

Інший аспект даного винаходу відноситься до застосування сполук формули (I), як описано вище, для виготовлення лікарського засобу, що застосовується при лікуванні розладу, пов'язаного з метаболізмом.

Інший аспект даного винаходу відноситься до застосування сполук формули (I), як описано вище, для виготовлення лікарського засобу, що застосовується при лікуванні розладу, пов'язаного з метаболізмом, вибраного з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну, огрядності, порушеної толерантності до глюкози, атеро-

матозного захворювання, гіпертензії, удару, синдрому Х, захворювання серця і діабету типу 2.

Інший аспект даного винаходу відноситься до застосування сполук формули (I), як описано вище, для виготовлення лікарського засобу, що застосовується при лікуванні атеросклерозу.

Інший аспект даного винаходу відноситься до застосування сполук формули (I), як описано вище, для виготовлення лікарського засобу, що застосовується при підвищенні рівня HDL у індивідуума.

Деякі варіанти здійснення даного винаходу відносяться до способів лікування розладу, пов'язаного з метаболізмом. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, вибирають з групи, яка складається з дисліпідемії, атеросклерозу, коронарного захворювання серця, резистентності до інсуліну, огрядності, порушеної толерантності до глюкози, атероматозного захворювання, гіпертензії, удару, синдрому Х, захворювання серця і діабету типу 2. В деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою дисліпідемію, атеросклероз, коронарне захворювання серця, резистентність до інсуліну і діабет типу 2. В деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою дисліпідемію. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою атеросклероз. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою коронарне захворювання серця. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою резистентність до інсуліну. У деяких варіантах здійснення розлад, пов'язаний з метаболізмом, являє собою діабет типу 2.

У деяких варіантах здійснення, пов'язаних зі способами даного винаходу, індивідум являє собою ссавця. В інших варіантах здійснення ссавцем є людина.

Інший аспект даного винаходу відноситься до способів отримання фармацевтичної композиції, що включають змішування або об'єднання сполуки формули (I), як описано вище, і фармацевтично прийнятної носії.

Композиції даного винаходу

Деякі варіанти здійснення даного винаходу включають фармацевтичні композиції, що містять сполуки відповідно до формули (I) в комбінації з фармацевтично прийнятним носієм.

Деякі варіанти здійснення даного винаходу включають спосіб отримання фармацевтичної композиції, що включає змішування, щонайменше, однієї сполуки відповідно до будь-якого з варіантів здійснення сполуки, описаного вище, і фармацевтично прийнятної носії.

Композиції можуть бути отримані за допомогою будь-якого придатного для використання способу, як правило, за допомогою однорідного змішування активної сполуки (сполук) з рідинами або тонкоподрібненими твердими носіями, або з обома, в необхідних пропорціях, і потім, якщо це необхідно, формування отриманої суміші в бажану форму.

У таблетках і капсулах для перорального введення можуть використовуватися звичайні ексци-

пієнти, такі як зв'язувальні агенти, наповнювачі, прийнятні змочувальні агенти, лубриканти для таблетування і дезінтегранти. Рідкі композиції для перорального введення можуть бути в формі розчинів, емульсій, водних або масляних суспензій і сиропів. Альтернативно, композиції для перорального введення можуть знаходитися в формі сухого порошку, який може відновлюватися водою або іншим придатним рідким носієм перед використанням. У рідкі композиції можуть додаватися додаткові добавки, такі як суспендуючі або емульгуючі агенти, неводні носії (включаючи харчові масла), консерванти і ароматизуючі речовини, і фарбувальні речовини. Дозовані форми для парентерального введення можуть готуватися за допомогою розчинення сполуки даного винаходу у відповідному рідкому носії і стерилізації на фільтрі розчину перед заповненням і герметизацією відповідного флакона або ампули. Це всього декілька прикладів з безлічі відповідних способів для отримання дозованих форм, добре відомих в даній галузі.

Сполука даного винаходу може складатися з фармацевтичних композицій з використанням технологій, добре відомих фахівцям в даній галузі. Відповідні фармацевтично прийнятні носії, крім тих, які розглянуті в даному описі, відомі в даній галузі; наприклад, [див. Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2000, Lippincott Williams & Wilkins, (Editors: Gennaro, A.R., et al.)].

Хоч є можливим, щоб сполука для застосування при лікуванні даного винаходу могла, при альтернативному використанні, вводиться у вигляді неочищеної або чистої речовини, переважно, однак, представити сполуку або "активний інгредієнт" як фармацевтичний склад або композицію, що додатково містять фармацевтично прийнятний носій. З цієї причини, один з аспектів даного винаходу охоплює фармацевтичні композиції, що містять фармацевтично прийнятний носій в комбінації, щонайменше, з однією сполукою відповідно до формули (I).

Даний винахід передбачає фармацевтичні композиції, що містять сполуку даного винаходу або її фармацевтично прийнятну сіль, гідрат або сольват, разом з одним або декількома фармацевтично прийнятними носіями. Носій (носії) повинні бути "прийнятними" в значенні сумісності з іншими інгредієнтами композиції і не дуже шкідливими для реципієнта.

Фармацевтичні композиції включають такі, які придатні для перорального, ректального, назального, місцевого (включаючи букальне і сублінгвальне), вагінального або парентерального (включаючи внутрішньом'язове, підшкірне і внутрішньовенне) введення або в формі, придатній для введення за допомогою інгаляції, інсуфляції або за допомогою трансдермального пластиру. Трансдермальні пластири розподіляють лікарський засіб при контрольованій швидкості, надаючи лікарський засіб для поглинання ефективним чином при мінімальній деградації лікарського засобу. Як правило, трансдермальні пластири містять непроникний шар підкладки, один чутливий до тиску адгезив і захисний шар, що видалюється з прокла-

дкою, що знімається. Фахівцєві в даній галузі будуть зрозумілі і очевидні технології, придатні для отримання бажаного ефективного трансдермального пластиру на основі потреб фахівця.

Сполуки даного винаходу, разом із звичайною допоміжною речовиною, носієм або розріджувачем, можуть бути, таким чином, представлені в формі фармацевтичних композицій і їх одиничних дозованих форм, і в такій формі можуть використовуватися як тверді продукти, такі як таблетки або заповнені капсули, або як рідини, такі як розчини, суспензії, емульсії, еліксири, гелі або капсули, заповнені ними, всі для перорального застосування, в формі супозиторіїв для ректального введення; або в формі стерильних розчинів для ін'єкцій, для парентерального (включаючи підшкірне) застосування. Такі фармацевтичні композиції і їх одиничні дозовані форми можуть містити звичайні інгредієнти в звичайних пропорціях, з додатковими активними сполуками або речовинами, або без них, і такі одиничні дозовані форми можуть містити будь-яку придатну ефективну кількість активного інгредієнта, сумісну з передбачуваністю діапазоном щоденного дозування, яке повинне застосовуватися.

Для перорального введення фармацевтична композиція може бути в формі, наприклад, таблетки, капсули, суспензії або рідини. Фармацевтичну композицію переважно виготовляти у вигляді дозованої одиниці, що містить конкретну кількість активного інгредієнта. Приклади таких дозованих одиниць являють собою капсули, таблетки, порошки, гранули або суспензію, із звичайними добавками, такими як лактоза, маніт, кукурудзяний крохмаль або картопляний крохмаль; зі зв'язувальними речовинами, такими як кристалічна целюлоза, похідні целюлози, смола акації, кукурудзяний крохмаль або желатин; з дезінтегрантами, такими як кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль або натрійкарбоксиметилцелюлоза; і з лубрикантами, такими як тальк або стеарат магнію. Активний інгредієнт може також вводиться за допомогою ін'єкції у вигляді композиції, в якій, наприклад, сольовий розчин, декстроза або вода може використовуватися як відповідний фармацевтично прийнятний носій.

Сполуки даного винаходу або їх сольват або фізіологічно функціональне похідне можуть використовуватися як активні інгредієнти в фармацевтичних композиціях, зокрема, як агоністи рецептора RUP25. Термін "активний інгредієнт", визначається в контексті "фармацевтичної композиції" і означає компонент фармацевтичної композиції, який забезпечує первинний фармакологічний вплив, в протилежність "неактивному інгредієнту", який повинен, як правило, розглядатися як такий, що не дає фармацевтичної користі.

Доза при використанні сполук даного винаходу може змінюватися в широких межах і, звичайно і, як відомо лікарєві, повинна підбиратися для індивідуальних умов в кожному індивідуальному випадку. Вона залежить, наприклад, від природи і тяжкості захворювання, яке повинно лікуватися, від стану пацієнта, від сполуки, що застосовується, або від того, чи здійснюється лікування гострого

або хронічного хворобливого стану або чи вводяться інші активні сполуки, в доповнення до сполук даного винаходу. Репрезентативні дози даного винаходу включають, але, не обмежуючись ними, приблизно від 0,001мг до 5000мг, приблизно від 0,001 до 2500мг, приблизно від 0,001 до 1000мг, приблизно від 0,001 до 500мг, приблизно від 0,001мг до 250мг, приблизно від 0,001мг до 100мг, приблизно від 0,001мг до 50мг і приблизно від 0,001мг до 25мг. Протягом дня може вводитися декілька доз, особливо, якщо вважається, що будуть потрібні відносно великі кількості, наприклад 2, 3 або 4 дози. В залежності від індивідуума і як вважається необхідним лікарєм або фахівцем, що спостерігає пацієнта, може виявитися необхідним відхилення вгору або вниз від доз, описаних вище.

Кількість активного інгредієнта або його активної солі, або похідного, необхідна для використання при лікуванні, буде змінюватися не тільки разом з конкретною вибраною сіллю, але також разом з способом введення, природою і станом, який лікується, і віком і станом пацієнта, і, зрештою, буде покладатися відповідальність на лікуючого лікаря або клініциста. Як правило, фахівцєві в даній галузі буде зрозуміло, як екстраполювати дані *in vivo*, отримані на модельній системі, на іншу систему, наприклад, з тваринної моделі на людину. Як правило, тваринні моделі включають, але, не обмежуючись ними, моделі діабету у гризунів, як описано в прикладі 1, нижче; модель атеросклерозу у мишей, як описано в прикладі 2, нижче; або модель атеросклерозу у тварин *in vivo*, як описано в прикладі 5, нижче. При деяких обставинах, ці екстраполяції можуть засновуватися тільки лише на масі тваринної моделі, в порівнянні з іншою, такою як ссавець, переважно, людина, однак, частіше, ці екстраполяції не просто засновуються на різниці в масі, але швидше включають безліч чинників. Репрезентативні чинники включають тип, вік, масу, стать, дієту і медичний стан пацієнта, тяжкість захворювання, спосіб введення, фармакологічні міркування, такі як активність, ефективність, фармакокінетичні і токсикологічні профілі конкретної сполуки, що застосовується, чи використовується система доставки лікарських засобів, чи здійснюється лікування гострого або хронічного хворобливого стану або чи вводяться інші активні сполуки, в доповнення до сполук формули (I) і як частина комбінації лікарських засобів. Режим дозування для лікування хворобливого стану за допомогою сполук і/або композицій даного винаходу вибирається відповідно до безлічі таких чинників, які цитуються вище. Таким чином, реальний режим дозування, що використовується, може змінюватися в широких межах і з цієї причини може відхилятися від переважного режиму дозування, і фахівець в даній галузі помітить, що дозування і режим дозування поза цими типовими межами може досліджуватися, і там, де це є відповідним, може використовуватися в способах даного винаходу.

Бажану дозу зручно представляти в одній дозі або в розділених дозах, що вводяться через відповідні інтервали, наприклад, як дві, три, чотири або більше субдоз в день. Сама субдоза може бути додатково розділена, наприклад, на ряд

окремих вільно здійснюваних введеннях Денна доза може бути розділена на декілька введення, особливо, якщо вважається, що необхідно вводити відносно великі кількості, наприклад, на 2, 3 або 4 окремих введення. Якщо це необхідне, в залежності від поведінки індивідуума, може бути необхідним відхилення вгору або вниз від вказаної денної дози.

Сполуки даного винаходу можуть вводитися у вигляді різноманітних пероральних і парентеральних дозованих форм Фахівцеві в даній галузі буде очевидно, що наступні дозовані форми можуть містити як активний компонент або сполуку даного винаходу, або фармацевтично прийнятну сіль сполуки даного винаходу.

Для отримання фармацевтичних композицій із сполук даного винаходу, фармацевтично прийнятні носії можуть бути або твердими, або рідкими. Композиції в твердій формі включають порошки, таблетки, пілюлі, капсули, облатки, супозиторії і гранули, що диспергуються. Твердий носій може являти собою одну або декілька речовин, які можуть також діяти як розріджувачі, ароматизуючі агенти, солюбілізатори, лубриканти, суспендуючі агенти, зв'язувальні речовини, консерванти, дезінтегранти для таблеток або інкапсулюючий засіб.

У порошках носій являє собою тонкоподрібнену тверду речовину, яка знаходиться в суміші з тонкоподрібненим активним компонентом

У таблетках, активний компонент змішується з носієм, що має необхідну здібність до зв'язування, у відповідних пропорціях і спресовується в бажаній формі і розмірах.

Порошки і таблетки можуть містити різні процентні кількості активної сполуки Репрезентативна кількість в порошок або таблетці може містити приблизно від 0,5 до 90 відсотків активної сполуки; однак, фахівець повинен знати, коли необхідні кількості поза цими межами. Носії, придатні для порошоків і таблеток, являють собою карбонат магнію, стеарат магнію, тальк, цукор, лактозу, пектин, декстрин, крохмаль, желатин, смолу трагаканту, метилцелюлозу, натрійкарбоксиметилцелюлозу, віск з низькою температурою плавлення, масло какао і т.п. Передбачається, що термін "отримання" включає отримання активної сполуки з інкапсулюючим засобом як носія, що забезпечує капсулу, в якій активний компонент з носіями або без оточений носієм, який, таким чином, пов'язаний з ним. Подібним же чином, термін включає облатки і коржики. Таблетки, порошки, капсули, пілюлі, облатки і коржики можуть використовуватися у вигляді твердих форм, придатних для перорального введення.

Для отримання супозиторіїв, віск з низькою температурою плавлення, наприклад з домішкою гліцеридів жирних кислот або масла какао, спочатку розплавляють і активний компонент гомогенно диспергують в ньому, наприклад, за допомогою перемішування. Потім розплавлену гомогенну суміш виливають в форми зручного розміру, дають вихолонуті і, тим самим, затвердіти.

Композиції, придатні для вагінального введення, можуть бути представлені як песарії, тампони, креми, гелі, пасти, піни або спреї, що містять, в

доповнення до активного інгредієнта, носії, відомі як придатні в даній галузі.

Композиції в рідкій формі включають розчини, суспензії і емульсії, наприклад, розчини у воді або суміші вода-пропіленгліколь. Наприклад, рідкі композиції для парентеральних ін'єкцій можуть бути отримані як розчини у водному розчині поліетиле-нгліколю. Композиції для ін'єкцій, наприклад, стерильні водні або масляні суспензії для ін'єкцій можуть бути отримані, як відомо в даній галузі, з використанням відповідних диспергуючих або змочувальних агентів і суспендуючих агентів. Стерильний препарат для ін'єкцій може також являти собою стерильний розчин або суспензію для ін'єкцій в нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчиннику, наприклад, у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Серед придатних носіїв і розчинників, які можуть використовуватися, є вода, розчин Рінгера і ізотонічний розчин хлориду натрію. У доповнення, як розчинник звичайно використовуються стерильні, фіксовані масла або суспендуючі середовища. Для цієї мети може використовуватися будь-яке м'яке фіксоване масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. У доповнення, при отриманні композицій для ін'єкцій, знаходять застосування жирні кислоти, такі як олеїнова кислота.

Сполуки відповідно до даного винаходу можуть, таким чином, складатися в композиції для парентерального введення (наприклад, за допомогою ін'єкції, такої як ін'єкції болуса або безперервного вливання) і можуть бути представлені в одиничній дозованій формі в ампулах, заздалегідь заповнених шприцах, контейнерах малого об'єму для вливань або в контейнерах для множинних доз з додаванням консерванту. Композиції можуть приймати такі форми, як суспензії, розчини або емульсії в масляних або водних носіях, і можуть містити агенти, необхідні для отримання, такі як суспендуючі, такі, що стабілізують, і/або диспергуючі агенти. Альтернативно, активний інгредієнт може бути в формі порошок, отриманого за допомогою асептичного виділення стерильного твердого продукту або за допомогою ліофілізації з розчину, для відновлення перед застосуванням відповідним носієм, наприклад, стерильній воді, що не містить пірогенів.

Водні розчини, придатні для перорального застосування, можуть бути отримані за допомогою розчинення активного компонента у воді і додавання відповідних фарбувальних речовин, ароматизаторів, стабілізуючих та загущувальних агентів, за бажанням.

Водні суспензії, придатні для перорального застосування, можуть бути отримані за допомогою диспергування тонкоподрібненого активного компонента у воді з в'язкою речовиною, такою як натуральні або синтетичні декстрини, смоли, метилцелюлоза, натрійкарбоксиметилцелюлоза або інші добре відомі суспендуючі агенти.

Включаються сюди також композиції в твердій формі, які призначені для перетворення, незадовго перед застосуванням, в композиції в рідкій формі для перорального введення. Такі рідкі форми включають розчини, суспензії і емульсії. Ці компо-

зиції можуть містити, в доповнення до активного компонента, фарбувальні речовини, ароматизатори, стабілізатори, буфери, штучні і натуральні підсолоджувачі, диспергуючі агенти, загущувальні агенти, солюбілізуєчі агенти і т.п.

Для місцевого введення в епідерміс сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути отримані у вигляді мазі, крему або лосьйону, або у вигляді трансдермального пластиру.

Мазі і креми можуть бути складені, наприклад, разом з водною або масляною основою, з додаванням відповідних загущувальних агентів і/або гелеутворювальних агентів. Лосьйони можуть бути складені разом з водною або масляною основою і будуть, як правило, містити також один або декілька емульгуючих агентів, стабілізуючих агентів, диспергуючих агентів, суспендуючих агентів, загущувальних агентів або фарбувальних агентів.

Композиції, придатні для місцевого введення в ротову порожнину, включають коржики, що містять активний агент в ароматизованій основі, звичайно, в сахарозі і смолі акації або трагаканту; пастилки, що містять активний інгредієнт в інертній основі, такий як желатин і гліцерин або сахароза і смола акації; і полоскання для рота, що містять активний інгредієнт у відповідному рідкому носії.

Розчини або суспензії наносяться безпосередньо в носову порожнину за допомогою звичайних засобів, наприклад, за допомогою крапельниці, піпетки або спрею. Композиції можуть передбачатися в одиничній дозованій формі або в формі декількох доз. В останньому випадку, з крапельниці або піпетки це може досягатися за допомогою введення пацієнту відповідного заданого об'єму розчину або суспензії. У випадку спрею, це може досягатися, наприклад, за допомогою відмірювального насоса розпилювального пристрою.

Введення в дихальний тракт може також досягатися за допомогою композиції аерозолі, в якому активний інгредієнт передбачається в упаковці під тиском разом з відповідним пропелентом. Якщо сполуки формули (I) або фармацевтичні композиції, що містять їх, вводяться як аерозолі, наприклад, як назальні аерозолі, або за допомогою інгаляції, це може бути здійснене, наприклад, з використанням спрею, розпилювача, розпилювача з насосом, пристрою для інгаляції, відмірювального інгалятора або інгалятора з сухим порошком. Фармацевтичні форми для введення сполуки формули (I) у вигляді аерозолі можуть бути отримані за допомогою способів, добре відомих фахівцям в даній галузі. Для їх виготовлення можуть використовуватися, наприклад, розчини або дисперсії сполук формули (I) у воді, сумішах вода/спирт або у відповідних сольових розчинах з використанням звичайних добавок, наприклад, бензилового спирту або інших відповідних консервантів, підсилювачів абсорбції для збільшення біодоступності, солюбілізаторів, диспергуючих агентів та інших, і якщо потрібно, відповідних пропелентів, наприклад, включаючи двоокис вуглецю, CFC (хлорфторвуглець), таких як дихлордифторметан, трихлорфторметан або дихлортетрафторетан; і тому подібне. Зручно, щоб аерозоль також містив поверхнево-активну речовину, таку як лецитин. Доза

лікарського засобу може контролюватися за допомогою забезпечення відмірювального клапана.

У композиціях, призначених для введення в дихальний тракт, включаючи інтраназальні композиції, сполука, як правило, буде мати малий розмір частинок, наприклад, порядку 10 мікрон або менше. Такий розмір частинок може бути отриманий за допомогою засобів, відомих в даній галузі, наприклад, за допомогою мікронізації. Коли це бажано, можуть використовуватися композиції, адаптовані для отримання тривалого вивільнення активного інгредієнта.

Альтернативно, активні інгредієнти можуть передбачатися в формі сухого порошку, наприклад, порошкоподібної суміші сполуки у відповідній порошковій основі, такий як лактоза, крохмаль, похідні крохмалю, такі як гідроксипропілметилцелюлоза і полівінілпіролідон (PVP). Зручно, щоб порошкоподібний носій утворював гель в носовій порожнині. Порошкова композиція може бути надана в одиничній дозованій формі, наприклад, в капсулах або картриджах, наприклад, з желатину, або блістерних упаковках, з яких порошок може вводитися за допомогою інгалятора.

Фармацевтичні композиції переважно знаходяться в формі одиничних дозованих форм. У такій формі препарат розділяється на одиничні дози, що містять відповідні кількості активного компонента. Вигляд одиничної дозованої форми може являти собою упакований препарат, упаковка містить окремі кількості препарату, такі як упаковані таблетки, капсули і порошки у флаконах або ампулах. Також одинична дозована форма може являти собою капсулу, таблетку, облатки або коржик, сама по собі, або може являти собою відповідну кількість будь-якого з них в упакованій формі.

Таблетки або капсули для перорального введення і рідини для внутрішньовенного введення являють собою переважні композиції.

Сполуки даного винаходу можуть бути перетворені в "проліки". Термін "проліки" відноситься до сполук, які модифікуються конкретними хімічними групами, відовими в даній галузі і, коли їх вводять індивідууму, ці групи зазнають біотрансформації з отриманням вихідної сполуки. Таким чином, проліки можуть розглядатися як сполуки даного винаходу, що містять одну або декілька спеціалізованих нетоксичних захисних груп, що тимчасово використовуються для зміни або усунення властивості сполуки. Як правило, підхід "проліків" використовується для полегшення пероральної абсорбції. Докладне обговорення наведено у [T. Higuchi and V. Stella, в "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Volume. 14 of A.C.S. Symposium Series, і в Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987], обидві тим самим включаються за допомогою посилань у всій їх повноті.

Комбінована терапія

Хоч сполуки даного винаходу можуть вводитися як єдиний активний фармацевтичний агент (тобто, як монотерапія), вони також можуть використовуватися в комбінації з іншими фармацевтичними агентами (тобто, як комбінована терапія),



наприклад, для лікування захворювань/станів/розладів, описаних в даному описі. З цієї причини, інший аспект даного винаходу включає способи лікування захворювань, пов'язаних з метаболізмом, що включають введення індивідууму, що потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості сполуки даного винаходу в комбінації з одним або декількома додатковими фармацевтичними агентами, як описано вище.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають агенти проти огрядності, такі як інгібітори білка секреції аполіпопротеїну-V/мікросомального переносу тригліцеридів (аро-V/MTP), агоністи MCR-4, агоністи холецистокініну-A (CCK-A), інгібітори повторного поглинання серотоніну і норепінефрину (наприклад, сибутрамін), симпатоміметичні агенти, агоністи адренергічних рецепторів  $\beta_3$ , агоністи допаміну (наприклад, бромокриптин), аналоги рецептора гормону, що стимулює меланоцити, антагоністи рецепторів 1 канабіноїдів [наприклад, SR141716: N-(піперидин-1-іл)-5-(4-хлорфеніл)-1-(2,4-дихлорфеніл)-4-метил-1H-піразол-3-карбоксамід], антагоністи гормону, що концентрує меланін, лептони (білок OB), аналоги лептину, агоністи рецептора лептину, антагоністи галаніну, інгібітори ліпази (такі як тетрагідроліпстатин, тобто, орлістат), аноректичні агенти (такі як агоніст бомбезину), антагоністи нейропептиду-Y, тироміметичні агенти, дегідроепіандростерон або його аналог, агоністи або антагоністи рецептора глюкостероїдів, антагоністи рецептора орексину, антагоністи білка, що зв'язує урокортин, агоністи рецептора 1 глюкагон-подібного пептиду, циліарні нейротропні фактори (такі як Axokine™, доступний від Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY, і Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), білки, споріднені до агуті людини (AGRP), антагоністи рецептора греліну, антагоністи або зворотні агоністи рецептора 3 гістаміну, агоністи рецептора U нейромедіну, норадренергічні аноректичні агенти (наприклад, фентермін, мазиндол і т. п.) і пригнічувачі апетиту (наприклад, бупропіон).

Інші агенти проти огрядності, включаючи агенти, наведені нижче, добре відомі фахівцям в даній галузі або будуть очевидні в світлі даного опису.

У деяких варіантах здійснення агенти проти огрядності вибираються з групи, яка складається з орлістату, сибутраміну, бромокриптину, ефедрину, лептину і псевдоефедрину. В іншому варіанті здійснення сполуки даного винаходу і комбіновані терапії вводяться нарівні із вправами і/або розумною дієтою.

Зрозуміло, що рамки комбінованої терапії сполуками даного винаходу разом з іншими агентами проти огрядності, аноректичними агентами, пригнічувачем апетиту і спорідненими агентами не обмежуються тим, що перераховано вище, але включають, в принципі, будь-яку комбінацію з будь-яким фармацевтичним агентом або фармацевтичною композицією, придатними для лікування індивідуумів, що мають зайву вагу, і огрядних індивідуумів.

Інші відповідні фармацевтичні агенти, в доповнення до агентів проти огрядності, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають агенти, придатні для лікування супутніх розладів. Лікування таких розладів включає застосування одного або декількох фармацевтичних агентів, відомих в даній галузі, які належать до класів лікарських засобів, що відносяться, але, не обмежуючись ними, до наступних: сульфонілсечовин, меглітинідів, бігуанідів, інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази, агоністів активованого проліфераторами пероксисом рецептора- $\gamma$  (тобто, PPAR- $\gamma$ ), інсуліну, аналогів інсуліну, інгібіторів HMG-CoA редуктази, лікарських засобів, що знижують рівень холестерину (наприклад, фібрів, які включають: фенофібрат, безафібрат, гемфіброзил, клофібрат і т.п.; секвестрантів жовчних кислот, які включають: холистирамін, коlestипол і т.п.; і ніацин), агентів проти утворення бляшок (наприклад, аспірин і антагоністів рецептора аденозиндифосфату, які включають: клопідогрель, тиклопідин і т.п.), інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту, антагоністів рецептора II ангіотензину і адипонектину. Відповідно до одного з аспектів даного винаходу сполука даного винаходу може використовуватися в комбінації з фармацевтичним агентом або агентами, що належать до одного або декількох класів лікарських засобів, перерахованих вище.

Зрозуміло, що рамки комбінованої терапії сполуками даного винаходу разом з іншими фармацевтичними агентами не обмежуються тим, що перераховано вище або нижче, але включають, в принципі, будь-яку комбінацію з будь-яким фармацевтичним агентом або фармацевтичною композицією, придатною для лікування захворювань, станів або розладів, які пов'язані з розладами, пов'язаними з метаболізмом.

Деякі варіанти здійснення даного винаходу включають способи лікування захворювання, розладу або стану, як описано вище, що включають введення індивідууму, який потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості або дози сполук даного винаходу в комбінації, щонайменше, з одним фармацевтичним агентом, вибраним з групи, яка складається з: сульфонілсечовин, меглітинідів, бігуанідів, інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази, агоністів активованого проліфераторами пероксисом рецептора- $\gamma$  (тобто, PPAR- $\gamma$ ), інсуліну, аналогів інсуліну, інгібіторів HMG-CoA редуктази, лікарських засобів, що знижують рівень холестерину (наприклад, фібрів, які включають: фенофібрат, безафібрат, гемфіброзил, клофібрат і т.п.; секвестрантів жовчних кислот, які включають: холистирамін, коlestипол і т.п.; і ніацин), агентів проти утворення бляшок (наприклад, аспірин і антагоністи рецептора аденозиндифосфату, які включають: клопідогрель, тиклопідин і т.п.), інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту, антагоністів рецептора II ангіотензину і адипонектину. У деяких варіантах здійснення фармацевтична композиція додатково містить один або декілька агентів, вибраних з групи, яка складається з інгібітора  $\alpha$ -глюкозидази, інгібітора альдозаредуктази, бігуаніду, інгібітора HMG-CoA редуктази, інгібітора син-

тезу скваленів, фібрату, підсилювача катаболізму LDL, інгібітора ангіотензин-перетворювального ферменту, підсилювача секреції інсуліну і тіазолідиніону.

Один з аспектів даного винаходу охоплює фармацевтичні композиції, що містять, щонайменше, одну сполуку відповідно до формули (I), як описано вище. У деяких варіантах здійснення фармацевтична композиція додатково містить один або декілька агентів, вибраних з групи, яка складається, наприклад, з інгібітора  $\alpha$ -глюкозидази, інгібітора альдозаредуктази, бігуаніду, інгібітора HMG-CoA редуктази, інгібітора синтезу скваленів, фібрату, підсилювача катаболізму LDL, інгібітора ангіотензин-перетворювального ферменту, підсилювача секреції інсуліну і тіазолідиніону.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази. Інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази належать до класу лікарських засобів, які конкурентно інгібують дигестивні ферменти, такі як  $\alpha$ -амілаза, мальтаза,  $\alpha$ -декстриназа, суцраза і т.п., в підшлунковій залозі і/або тонкому кишечнику. Зворотне інгібування за допомогою інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази сповільнює, зменшує або іншим чином знижує рівні глюкози в крові за допомогою сповільнення перетравлювання крохмалю і цукру. Деякі репрезентативні приклади інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази включають акарбозу, N-(1,3-дигідрокси-2-пропіл)валіоламін (загальне найменування воглібоза), міглітол і інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають сульфонілсечовини. Сульфонілсечовини (SU) являють собою лікарські засоби, які полегшують секрецію інсуліну  $\beta$ -клітинами підшлункової залози за допомогою передачі сигналів секреції інсуліну через рецептори SU в клітинних мембранах. Приклади сульфонілсечовин включають глібурид, гліпізид, глімепірид та інші сульфонілсечовини, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають меглітиніди. Меглітиніди являють собою похідні бензойної кислоти, що являють собою новий клас агентів, що полегшують секрецію інсуліну. Ці агенти націлені на післяобідню гіперглікемію і показують ефективність, порівнянну з сульфонілсечовинами, при відновленні HbA<sub>1c</sub>. Приклади меглітинідів включають репаглінід, натеглінід й інші меглітиніди, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають бігуаніди. Бігуаніди являють собою клас лікарських засобів, які стимулюють анаеробний гліколіз, збільшують чутливість до інсуліну в периферичних тканинах, інгібують поглинання глюкози в кишечнику, пригнічують глюконеогенез в печінці і інгібують окислення жирних кислот. Приклади бігуанідів включають фенформін, метформін, буформін і бігуаніди, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази. Інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази конкурентно інгібують дигестивні ферменти, такі як  $\alpha$ -амілаза, мальтаза,  $\alpha$ -декстриназа, суцраза і т.п., в підшлунковій залозі і/або в тонкому кишечнику. Зворотне інгібування за допомогою інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази сповільнює, зменшує або іншим чином знижує рівні глюкози в крові за допомогою сповільнення переварення крохмалю і цукру. Приклади інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази включають акарбозу, N-(1,3-дигідрокси-2-пропіл)валіоламін (загальне найменування воглібоза), міглітол і інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають агоністи активованого проліфераторами пероксисом рецептора- $\gamma$  (тобто, PPAR- $\gamma$ ). Агоністи активованого проліфераторами пероксисом рецептора- $\gamma$  являють собою клас сполук, які активують ядерний рецептор PPAR- $\gamma$  і таким чином регулюють транскрипцію інсулін-чутливих генів, залучених до контролю продукування, перенесення і утилізації глюкози. Агенти цього класу також полегшують регуляцію метаболізму жирних кислот. Приклади агоністів PPAR- $\gamma$  включають розиглітазон, піоглітазон, тезаглітазар, нетоглітазон, GW-409544, GW-501516 і агоністи PPAR- $\gamma$ , відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають інгібітори HMG-CoA редуктази. Інгібітори HMG-CoA редуктази являють собою агенти, вказані також як сполуки статину, які належать до класу лікарських засобів, які знижують рівні холестерину в крові за допомогою інгібування гідроксиметилглутатил-CoA (HMG-CoA) редуктази. HMG-CoA редуктаза являє собою фермент, який лімітує швидкість перетворення при біосинтезі холестерину. Статини знижують концентрацію LDL в сироватці крові за допомогою позитивного регулювання активності рецепторів LDL і є відповідальними за видалення LDL з крові. Деякі репрезентативні приклади сполук статину включають розувастатин, правастатин і його натрієву сіль, симвастатин, ловастатин, аторвастатин, флувастатин, церивастатин, пітавастатин, "супер-статин" BMS і інгібітори HMG-CoA редуктази, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту (ACE). Інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту належать до класу лікарських засобів, які частково знижують рівні глюкози в крові, а також знижують кров'яний тиск за допомогою інгібування ангіотензин-перетворювальних ферментів. Приклади інгібіторів ангіотензин-перетворювальних ферментів включають каптоприл, еналаприл, алацеприл, делаприл; раміприл, лізиноприл, імідаприл, беназеприл, церонаприл, цилазаприл, еналаприлат, фозиноприл, мувелтоприл, периндоприл, кінаприл, спіраприл, темокаприл, трандолаприл і інгібі-

тори ангіотензин-перетворювального ферменту, відомі в даній галузі.

Відповідні фармацевтичні агенти, які можуть використовуватися в комбінації із сполуками даного винаходу, включають антагоністи рецептора II ангіотензину. Антагоністи рецептора II ангіотензину націлені на субтип 1 рецептора II ангіотензину (тобто, ATI) і демонструють позитивний вплив на гіпертензію. Приклади антагоністів рецептора II ангіотензину включають лозартан (і форму калієвої солі) і антагоністи рецептора II ангіотензину, відомі в даній галузі.

Інші види лікування для одного або декількох із захворювань, що цитуються в даному описі, включають застосування одного або декількох фармацевтичних агентів, відомих в даній галузі, які належать до класів лікарських засобів, що відносяться, але, не обмежуючись ними, до наступних: агоністів аміліну (наприклад, прамлінтиду), агентів, що стимулюють секрецію інсуліну (наприклад, агоністів GLP-1; ексендину-4; інсулінотропіну (NN2211); інгібіторів дипептилпептидази (наприклад, NVP-DPP-728), інгібіторів ацил CoA-холестеринацетилтрансферази (наприклад, езетимібу, ефлуцимібу і подібних сполук), інгібіторів поглинання холестерину (наприклад, езетимібу, памаквезиду і подібних сполук), інгібіторів білків переносу ефіру холестерину (наприклад, CP-529414, JTTRET-705, CETi-1, торцетрапібу і подібних сполук), інгібіторів білків переносу мікросомальних тригліцеридів (наприклад, імплітапіду і подібних сполук), модуляторів холестерину (наприклад, HE-1886 і подібних сполук), модуляторів жовчних кислот (наприклад, GT103-279, і подібних сполук) і інгібіторів скваленсинтази.

Інгібітори синтезу скваленів належать до класу лікарських засобів, які знижують рівні холестерину в крові за допомогою інгібування синтезу скваленів. Приклади інгібіторів синтезу скваленів включають монокалієву сіль (S)- $\alpha$ -[bis(2,2-диметил-1-оксипропокси)][метокси]фосфініл]-3-феноксibenзолбутансульфонової кислоти (BMS-188494) і інгібітори синтезу скваленів, відомі в даній галузі.

Відповідно до даного винаходу, комбінація може використовуватися за допомогою змішування відповідних активних компонентів, або всіх разом, або незалежно, з фармацевтично прийнятним носієм, ексципієнтом, зв'язувальною речовиною, розріджувачем і т. п., як описано в даному описі вище, і введення суміші або сумішей або перорально, або неперорально, у вигляді фармацевтичної композиції. Коли сполука або суміш сполук формули (I) вводиться у вигляді комбінованої терапії з іншою активною сполукою, терапевтичні агенти можуть бути отримані як окремі фармацевтичні композиції, які вводять пацієнту в один і той же час або в різні моменти часу, або терапевтичні агенти можуть вводитися у вигляді однієї композиції.

Відповідно до даного винаходу комбінація сполук даного винаходу і фармацевтичного агента може бути отримана за допомогою змішування відповідних активних компонентів, або всіх разом, або незалежно, з фармацевтично прийнятним но-

сієм, ексципієнтом, зв'язувальною речовиною, розріджувачем і т. п., як описано вище, і введення суміші або сумішей або перорально, або неперорально у вигляді фармацевтичної композиції. Коли сполука або суміш сполук формули (I) вводиться у вигляді комбінованої терапії з іншою активною сполукою, терапевтичні агенти можуть бути отримані як окремі фармацевтичні композиції, які вводять пацієнту в один і той же час або в різні моменти часу, або терапевтичні агенти можуть вводитися у вигляді однієї композиції.

Мічені сполуки і способи аналізу

Інший об'єкт даного винаходу відноситься до радіоактивно-мічених сполук формули (I), які є корисними не тільки при отриманні радіоактивних зображень, але також при аналізах як *in vitro*, так і *in vivo*, для визначення локалізації і кількісного визначення RUP25 в зразках тканин, включаючи людину, і для ідентифікації лігандів RUP25 за допомогою інгібування зв'язування радіоактивно-міченої сполуки. Іншим об'єктом даного винаходу є включення нових аналізів RUP25, які включають такі радіоактивно-мічені сполуки.

Даний винахід охоплює ізотопно-мічені сполуки формули (I) і будь-які підгрупи, вказані вище, такі як, але, не обмежуючись ними, сполуки формул (Ia)-(Iz) і (IIa)-(IIId). "Ізотопно" або "радіоактивно-мічені" сполуки являють собою такі сполуки, які ідентичні сполукам, описаним вище, але з тією відмінністю, що один або декілька атомів замінені або заміщені атомом, що має атомну масу або масовий номер, який відрізняється від атомної маси або масового номера, що звичайно виявляється в природі (тобто, що зустрічається в природі). Відповідні радіонукліди, які можуть вводитися в сполуки даного винаходу, включають, але, не обмежуючись ними,  $^2\text{H}$  (що також записується як D для дейтерію),  $^3\text{H}$  (що також записується як T для тритію),  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$  і  $^{131}\text{I}$ . Радіонуклід, який вводиться в дані радіоактивно-мічені сполуки, буде залежати від конкретного застосування цієї радіоактивно-міченої сполуки. Наприклад, для аналізів з міченням і конкуренцією RUP25 *in vitro*, як правило, будуть найбільш корисними сполуки, які включають  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$ . Для застосування з отриманням радіоактивних зображень, як правило, будуть найбільш корисними  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$  або  $^{77}\text{Br}$ .

Зрозуміло, що "радіоактивно-мічена" або "мічена сполука" являє собою сполуку формули (I), яка містить, щонайменше, один радіонуклід; в деяких варіантах здійснення радіонуклід вибирають з групи, яка складається з  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  і  $^{82}\text{Br}$ .

Певні ізотопно-мічені сполуки даного винаходу є корисними при аналізах розподілу сполуки і/або субстрату в тканинах. В деяких варіантах здійснення при цих дослідженнях є корисними радіонуклідні ізотопи  $^3\text{H}$  і/або  $^{14}\text{C}$ . Крім того, заміщення більш важкими ізотопами, такими як дейтерій (тобто,  $^2\text{H}$ ), може дати певні терапевтичні переваги, що виникають внаслідок більшої метаболічної стабільності (наприклад, збільшення часу напіврозпаду *in vivo* або знижені вимоги до дозування), і з цієї причини, можуть бути переважними в деяких об-

ставинах. Ізотопно-мічені сполуки даного винаходу можуть, як правило, бути отримані за допомогою наступних методик, аналогічно наведених на схемах, вище, і в прикладах, нижче, за допомогою заміщення ізотопно-міченим реагентом ізотопно-неміченого реагенту. Інші способи синтезу, які є корисними, обговорюються нижче. Крім того, необхідно зрозуміти, що всі атоми, представлені в сполуках даного винаходу, можуть являти собою або ізотопи таких атомів, що найчастіше зустрічаються, або більш рідкий радіоактивний ізотоп або нерадіоактивний ізотоп.

Способи синтезу для введення радіоактивних ізотопів в органічні сполуки застосовні до сполук даного винаходу і добре відомі в даній галузі. Ці синтетичні способи, наприклад, введення рівнів активності тритію в цільові молекули, є наступними:

А. Каталітичне відновлення газоподібним тритієм - ця методика звичайно дає продукти з високою питомою активністю і вимагає галогенованих або ненасичених попередників.

В. Відновлення боргидридом натрію [ $^3\text{H}$ ] - ця методика є швидше недорогою і вимагає попередників, що містять функціональні групи, що відновлюються, такі як альдегіди, кетони, лактони, складний ефір і т.п.

С. Відновлення літійалюмінійгидридом [ $^3\text{H}$ ] - ця методика дає продукти з майже теоретичною питомою активністю. Вона також вимагає попередників, що містять функціональні групи, що відновлюються, такі як альдегіди, кетони, лактони, складний ефір і т.п.

Д. Мічення за допомогою впливу газоподібним тритієм - ця методика включає вплив газоподібним тритієм в присутності відповідного каталізатора на попередники, що містять протони, що обмінюються.

Е. N-Метилування з використанням метилйодиду [ $^3\text{H}$ ] - ця методика звичайно використовується для отримання продуктів O-метилу або N-метилу ( $^3\text{H}$ ) обробкою відповідних попередників метилйодидом ( $^3\text{H}$ ) високої питомої активності. Ця методика, як правило, дає більш високу питому активність, таку, наприклад, як приблизно 70-90 Кюри/ммоль.

Способи синтезу для введення рівнів активності  $^{125}\text{I}$  в цільові молекули включають:

А. Реакцію Сандмейера і подібні їй - ця методика перетворює арил або гетероариламін в діазонієву сіль, таку як тетрафторборатна сіль, і потім в сполуку, мічену  $^{125}\text{I}$ , з використанням  $\text{Na}^{125}\text{I}$ . Про представлену методику повідомлено [Zhu, D.-G. and co-workers in J. Org. Chem. 2002, 67, 943-948].

В. Орто- $^{125}\text{I}$  йодування фенолів - ця методика робить можливою введення  $^{125}\text{I}$  в ортоположення фенолу, як повідомлялось [Collier, T.L. and co-workers in J. Labeled Compd. Radiopharm. 1999, 42, S264-S266].

С. Обмін арил- і гетероарилброміду з  $^{125}\text{I}$  - ця методика, як правило, являє собою двостадійний процес. Перша стадія являє собою перетворення арил- або гетероарилброміду у відповідну проміжну сполуку триалкілолова з використанням, наприклад, реакції, що каталізується  $\text{Pd}$  [тобто

$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ ] або через арил або гетероариллітій, в присутності триалкілгалогеніду олова або гексаалкілдіолова [наприклад,  $(\text{CH}_3)_3\text{SnSn}(\text{CH}_3)_3$ ]. Про представлену методику повідомлено [Bas, M.-D. and co-workers, J. Labeled Compd Radiopharm. 2001, 44, S280-S282].

Радіоактивно-мічена сполука RUP25 формули (I) може використовуватися при скринінговому аналізі для ідентифікації/оцінки сполук. У загальних термінах сполука, що наново синтезована або ідентифікована (тобто, досліджувана сполука), може оцінюватися на її здатність до зменшення зв'язування "радіоактивно-міченої сполуки формули (I)" з рецептором RUP25. Відповідно, здатність сполуки, що досліджується, до конкуренції з "радіоактивно-міченою сполукою формули (I)" за зв'язування з рецептором RUP25 прямо корелює з її здатністю до зв'язування.

Мічені сполуки даного винаходу зв'язуються з рецептором RUP25. В одному з варіантів здійснення мічена сполука має  $\text{IC}_{50}$ , меншу, приблизно, ніж 500 мкМ, в іншому варіанті здійснення мічена сполука має  $\text{IC}_{50}$ , меншу, приблизно, ніж 100 мкМ, ще в одному варіанті здійснення мічена сполука має  $\text{IC}_{50}$ , меншу, приблизно, ніж 10 мкМ, ще в одному варіанті здійснення мічена сполука має  $\text{IC}_{50}$ , меншу, приблизно, ніж 1 мкМ, і ще в одному варіанті здійснення мічений інгібітор має  $\text{IC}_{50}$ , меншу, приблизно, ніж 0,1 мкМ.

Інші застосування описаних рецепторів і способів будуть ясні фахівцям в даній галузі на основі, серед іншого, ознайомлення з даним описом.

Як буде ясно, стадії способів даного винаходу не повинні здійснюватися яку-небудь конкретну кількість разів або в якій-небудь конкретній послідовності.

Додаткові цілі, переваги і нові ознаки даного винаходу стануть ясні фахівцям в даній галузі при розгляді наступних прикладів, які розглядаються як ілюстративні приклади і не призначені для обмеження.

#### Приклади

Наступні приклади передбачаються для ілюстративних цілей, а не як засоби обмеження. Фахівець в даній галузі зможе провести еквівалентні аналізи і способи на основі даного опису, всі з яких становлять частину даного винаходу.

#### Приклад 1

##### Моделі діабету у гризунів

Розроблені моделі діабету у гризунів типу 2, пов'язаного з огрядністю і резистентністю до інсуліну. Генетичні моделі, такі як db/db і ob/ob мишей [див. Diabetes (1982) 31: 1-6] і fa/fa щурів Цукера, розроблені для розуміння патофізіології захворювання і для дослідження терапевтичних сполук-кандидатів [Diabetes (1983) 32: 830-838; Annu. Rep. Sankyo Res. Lab (1994) 46: 1-57]. Гомозиготні тварини, миші C57 BL/KsJ=db/db, отримані в Jackson Laboratory, є огрядними, гіперглікемічними, гіперінсулінемічними і резистентними до інсуліну [J. Clin. Invest. (1990) 85: 962-967], в той час як гетерозиготні є худими і нормоглікемічними. На моделі db/db мишей поступово з віком розвивається інсулінопенія, особливість, що звичайно спостерігається на пізніх стадіях діабету типу 2 у людей, коли рівні

цукру контролюються недостатньо. Оскільки ця модель нагадує модель діабету типу 2 людини, сполуки даного винаходу досліджують на активності, включаючи, але, не обмежуючись ними, зниження рівнів глюкози і тригліцеридів в плазмі крові. Щури Цукера (fa/fa) мають гостре ожиріння, гіперінсулінемію і резистентність до інсуліну [Coleman, Diabetes (1982) 31: 1; E Shafir in Diabetes Mellitus, H Rifkin and D Porte, Jr, Eds [Elsevier Science Publishing Co, New York, ed. 4, (1990), pp.299-340]], і мутація fa/fa може являти собою щурячий еквівалент мишачої мутації db [Friedman et al, Cell (1992) 69: 217-220; Truett et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1991) 88: 7806]. Коротконогі (tub/tub) миші характеризуються огрядністю, помірною резистентністю до інсуліну і гіперінсулінемією без значної гіперглікемії [Coleman et al, Heredity (1990) 81: 424].

Даний винахід охоплює застосування сполук даного винаходу для зниження резистентності до інсуліну і гіперглікемії на всіх з вказаних вище моделях діабету у гризунів, у людей з діабетом типу 2 або іншими переважними розладами, пов'язаним з метаболізмом, або розладами метаболізму ліпідів, описаними раніше, або на моделях на основі інших ссавців. Рівні глюкози і інсуліну в плазмі крові будуть досліджуватися, також як і інші чинники, включаючи, але, не обмежуючись ними, вільні жирні кислоти і тригліцериди в плазмі.

Дослідження *in vivo* на антигіперглікемічну активність сполук даного винаходу

Генетично змінених огрядних діабетичних мишей (db/db) (самців, вік 7-9 тижнів) утримують (7-9 мишей/клітку) в стандартних лабораторних умовах, при 22°C і 50% відносній вологості, і витримують на дієті з корму для гризунів Purina і води за потребою. Перед обробкою збирають кров з хвостової вени кожної тварини і визначають концентрацію глюкози в крові з використанням One Touch Basic Glucose Monitor System (Lifescan). Використовують мишей, які мають рівні глюкози в плазмі крові в межах 250-500мг/дл. Кожна оброблена група складається з семи мишей, які розподілені таким чином, що середні рівні глюкози в кожній групі на початку дослідження є еквівалентними. Мишей db/db дозують за допомогою мікроосмотичних насосів, вставлених з використанням ізофлуранової анестезії для підшкірної (s.c) доставки мишам сполук даного винаходу, сольового розчину або нерелевантної сполуки. Кров відбирають з хвостової вени через деякі інтервали після цього і аналізують на концентрацію глюкози в крові. Значущі відмінності між групами (порівнюючи тварин, оброблених сполуками даного винаходу з обробленими сольовим розчином) оцінюють з використанням перевірки за критерієм Ст'юдента.

#### Приклад 2

##### Модель атеросклерозу мишей

Миші з дефіцитом адипонектину, створені за допомогою нокауту гена адипонектину, як було показано, схильні до атеросклерозу і до резистентності до інсуліну. Миші також являють собою придатну для використання модель ішемічної хвороби серця [Matsuda, M et al. J Biol. Chem. (2002) July і посилання, що цитуються там, описи яких

включаються в даний опис шляхом посилань у всій їх повноті].

Мишей, нокаутованих по адипонектину, утримують (7-9 мишей/клітку) в стандартних лабораторних умовах, при 22°C і 50% відносній вологості. Мишей дозують за допомогою мікроосмотичного насоса, вставленого з використанням ізофлуранової анестезії для підшкірної (s.c) доставки мишам сполук даного винаходу, сольового розчину або нерелевантної сполуки. Неоінтимальне потовщення і ішемічну хворобу серця визначають для різних груп мишей, що умиряються через різні інтервали часу. Значущі відмінності між групами (порівнюючи мишей, оброблених сполуками даного винаходу, і оброблених сольовим розчином) оцінюють з використанням перевірки за критерієм Ст'юдента.

#### Приклад 3

##### Біологічна активність *in vitro*

Модифікований набір Flash Plate™ Adenylyl Cyclase (New England Nuclear, Cat. No.SMP004A) використовують для безпосередньої ідентифікації сполук-кандидатів в агоністи по відношенню до hRUP25 у відповідності з наступним протоколом. Термін hRUP25 включає послідовності, що знаходяться в GenBank Accession No. HM\_177551, для нуклеотиду людини, і GenBank Accession No.NP\_808219, для поліпептиду людини, і варіанти, що зустрічаються в природі алельні, ортологи ссавців і їх рекомбінантні мутанти.

Клітини CHO, стабільно трансфіковані вектором експресії, що кодує hROP25 і що культивуються в умовах, що дають можливість для експресії на поверхні клітин рецептора, що кодується hRUP25, збирають з флаконів за допомогою неферментативних засобів. Клітини промивають в PBS і ресуспендують в буфері для аналізу від виробника. Живі клітини рахують з використанням гематоцитометра і ексклюзії на Трупан blue, і концентрацію клітин встановлюють при  $2 \times 10^6$  клітин/мл. Стандарти цАМФ і буфер для детектування (що містить 2мкМ трасера [ $^{125}$ I]-цАМФ (100мкл) на 11мл буфера для детектування) готують і підтримують відповідно до інструкцій виробника. Сполуки-кандидати, ідентифіковані, як вказано вище (якщо заморожені, піддають відтаванню при кімнатній температурі), додають у відповідні ямки (переважно, ямки 96-ямкового планшета), при збільшенні концентрацій (3мкл/ямку; 12мкМ - кінцева концентрація при аналізі). До цієї ямки додають 100000 клітин в 50мкл буфера для аналізу і потім суміш інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі при обережному струшуванні. Після інкубування в кожну ямку додають 100мкл буфера для детектування, з подальшим інкубуванням протягом 2-24 годин. Планшети рахують на планшет-рідері Wallac MicroBeta™, використовуючи "Prot. #31" (згідно з інструкціями виробника).

Певні сполуки даного винаходу в способі цАМФ Whole Cell мають EC<sub>50</sub>, що дорівнює приблизно 25мкМ або менше.

#### Приклад 4

##### Біологічна активність *in vitro*

##### Аналіз зв'язування $^{35}$ S-GTPγS

Мембрани, отримані з клітин (CHO)-K1 яєчників китайського хом'ячка, що стабільно експресують рецептор ніацину, або контрольний вектор (7мкг/аналіз) розводять в буфері для аналізу (100мМ HEPES, 100мМ NaCl і 10мМ MgCl<sub>2</sub>, pH7,4) в планшетах Wallac Scintistrip і заздалегідь інкубують разом із сполуками, що досліджуються, розведеними в буфері для аналізу, що містить 40мкМ GDP (кінцева [GDP] дорівнює 10мкМ), протягом ~10 хвилин перед додаванням <sup>35</sup>S-GTPγS до 0,3нМ. Для усунення можливого осадження сполук всі сполуки спочатку готують в 100% ДМСО і потім

розводять буфером для аналізу, отримуючи при аналізі кінцеву концентрацію 3% ДМСО. Дають можливість відбуватися зв'язуванню протягом однієї години, потім планшети центрифугують при 4000об./хв. протягом 15 хвилин при кімнатній температурі і з подальшим підрахунком в сцинтиляційному лічильнику TopCount. Нелінійний регресійний аналіз кривих зв'язування здійснюють в GraphPad Prism.

Препарати мембран  
Матеріали:

Середовище для культивування клітин CHO-K1:	Модифіковане середовище для культивування клітин Kaighn F-12 з 10% FBS, 2мМ L-глутаміну, 1мМ пірувату натрію і 400мкг/мл G418 20мМ HEPES;
Буфер для відділення мембран:	10мМ EDTA, pH7,4 20мМ HEPES;
Буфер для відмивання мембран:	0,1мМ EDTA, pH7,4
Коктейль інгібіторів протеаз:	P-8340, (Sigma, St. Louis, MO)

#### Методика:

Аспірація середовища для культивування клітин з 15см<sup>2</sup> планшетів, промивання 5мл холодного PBS і аспірація.

Додавання 5мл буфера для відділення мембран і відділення мембран від клітин. Перенесення клітин і відділених мембран в 50мл пробірку для центрифугування. Додавання 50мкл коктейля інгібіторів протеаз.

Обертання при 20000об./хв. протягом 17 хвилин при 4°C.

Аспірація супернатанта і ресуспендування осаду після центрифугування в 30мл буфера для відмивання мембран.

Додавання 50мкл коктейля інгібіторів протеаз.

Обертання при 20000об./хв. протягом 17 хвилин при 4°C.

Аспірація супернатанта з осаду після центрифугування мембран. Осад можна заморозити при -80°C для використання надалі, або він може використовуватися безпосередньо.

#### Аналіз

#### Матеріали:

Натрієва сіль гуанозин-5'-дифосфату (GDP, Sigma-Aldrich Catalog #87127)

Триетиламонієва сіль гуанозин-5'-[γ<sup>35</sup>S]тіотрифосфату ([<sup>35</sup>S]GTPγS, Amersham Biosciences Catalog #SJ 1320, ~1000Кюрі/ммоль)

96-ямкові планшети Scintiplates (Perkin-Elmer #1450-501)

Буфер для зв'язування: 20мМ HEPES, pH7,4, 100мМ NaCl, 10мМ MgCl<sub>2</sub>

Буфер з GDP: буфер для зв'язування плюс GDP, в межах від 0,4 до 40мкМ, беруть свіжим перед аналізом

#### Методика:

(Загальний об'єм аналізу=100мкл/ямку)

25мкл буфера GDP із сполуками або без них (кінцевий об'єм GDP 10мкМ - так що використовуються 40мкМ вихідний розчин).

50мкл мембран в буфері для зв'язування (0,4мг білка/мл).

25мкл [<sup>35</sup>S]GTPγS в буфері для зв'язування. Отримують додаванням 5мкл вихідного розчину

[<sup>35</sup>S]GTPγS до 10мл буфера для зв'язування (цей буфер не містить GDP).

Відтавання планшетів із сполуками, які повинні досліджуватися (дочірні планшети з 5мкл сполуки і 2мМ в 100% ДМСО).

Розбавлення 2мМ сполук 1:50 за допомогою 245мкл буфера GDP до 40мкМ в 2% ДМСО. Відтавання замороженого осаду мембран на льоду.

Гомогенізація мембран відразу після цього в суспензії з використанням POLYTRON PT3100 (датчик RTPET-DA 3007/2 при настройці 7000об./хв.). Визначення концентрації білка в мембранах за допомогою аналізу Бредфорда. Розбавлення мембран до концентрації білка 0,40мг/мл в буфері для зв'язування. (Примітка: кінцева концентрація для аналізу дорівнює 20мкг/ямку).

Додавання 25мкл сполук в буфері GDP на ямку в Scintiplate.

Додавання 50мкл мембран на ямку в Scintiplate.

Попереднє інкубування протягом 5-10 хвилин при кімнатній температурі.

Додавання 25мкл розведеного [<sup>35</sup>S]GTPγS. Інкубування на шейкері (Lab-Line model #1314, струшування при настройці 4) протягом 60 хвилин при кімнатній температурі.

Припинення аналізу за допомогою центрифугування планшетів герметизованих за допомогою кришок для планшетів при 2500об./хв. протягом 20 хвилин, при 22°C.

Підрахунок на сцинтиляційному лічильнику TopCount NXT - протокол 35S.

Певні сполуки даного винаходу мають EC<sub>50</sub> при функціональному аналізі зв'язування GTPγS in vitro в діапазоні приблизно 10-100мкМ. Більш переважні сполуки даного винаходу мають значення EC<sub>50</sub> при цьому аналізі в діапазоні приблизно 1-10мкМ. Ще більш переважні сполуки мають значення EC<sub>50</sub> в цьому аналізі менше, приблизно, ніж 1мкМ.

#### Приклад 5

Тваринна модель in vivo

Одне із застосувань сполуки даного винаходу як лікарського засобу для профілактики і лікування

високого загального відношення холестерин/HDL-холестерин і станів, пов'язаних з цим, демонструється за допомогою активності сполуки при зниженні відношення загального рівня холестерину до HDL-холестерину. при підвищенні рівня HDL-холестерину або при захисті від атеросклерозу на моделі свиней *in vivo*. Свиней використовують як тваринну модель, оскільки вони відображають фізіологію людини, особливо метаболізм ліпідів, більше, ніж більшість інших тваринних моделей. Тут представлена ілюстративна модель свиней *in vivo*, що не передбачається як обмеження.

Йоркширських білих свиней (мас тіла 25,5±4кг) відгодовують кормом, збагаченим насиченими жирними кислотами і насиченим холестерином (SFA-CHO) протягом 50 днів (1кг корму на 35кг<sup>-1</sup> маси свині), що складається з стандартного корму, доповненого 2% холестерину і 20% яловичого сала [Royo T. et al., *European Journal of Clinical Investigation* (2000) 30: 843-52; опис якої тим самим включається в даний опис за допомогою посилання у всій його повноті]. Відношення насичених жирних кислот до ненасичених змінюється від 0,6 в нормальному кормі для свиней до 1,12 в кормі SFA-CHO. Тварин розділяють на дві групи, одну групу (n=8) відгодовують кормом SFA-CHO і обробляють плацебо, іншу групу (n=8) відгодовують кормом SFA-CHO і обробляють сполукою (3,0мг кг<sup>-1</sup>). Контрольних тварин відгодовують стандартним кормом протягом 50 днів. Зразки крові збирають на базовому рівні (через 2 дні після прийому тварин) і через 50 днів після початку годування. Аналізують ліпіди в крові. Тварин умертвляють і роблять некропсію.

Альтернативно, наведений вище аналіз включає декілька груп, кожну з яких обробляють різними дозами сполуки. Переважні вказані дози вибирають з групи, яка складається з: 0,1мг кг<sup>-1</sup>, 0,3мг кг<sup>-1</sup>, 1,0мг кг<sup>-1</sup>, 3,0мг кг<sup>-1</sup>, 10мг кг<sup>-1</sup>, 30мг кг<sup>-1</sup> і 100мг кг<sup>-1</sup>. Альтернативно, наведений вище аналіз здійснюють в декількох тимчасових точках. Переважні тимчасові точки вибирають з групи, яка складається з 10 тижнів, 20 тижнів, 30 тижнів, 40 тижнів і 50 тижнів.

#### HPL-Холестерин

Кров збирають в тринатрійцитраті (3,8%, 1:10). Плазму отримують після центрифугування (1200g, 15хв.) і відразу обробляють. Загальний рівень холестерину, HDL-холестерину і LDL-холестерину вимірюють з використанням автоматичного аналізатора Kodak Ektachem DT System (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA). Зразки зі значеннями параметрів вище за діапазон розводять розчином, що поставляється виробником, і потім аналізують повторно. Визначають відношення загальний холестерин/HDL-холестерин. Порівнюють рівні HDL-холестерину між групами. Порівнюють відношення загальний холестерин/HDL-холестерин між групами.

Підвищення рівня HDL-холестерину або зниження відношення загальний холестерин/HDL-холестерин при введенні сполуки беруть як показник сполуки, що має вказане вище застосування.

#### Атеросклероз

Торакальну і абдомінальну аорти видаляють інтактними, відкривають подовжньо вздовж вентральної поверхні і фіксують в нейтральному формаліні з буфером після видалення зразків зі стандартних ділянок в торакальній і абдоминальній аорті для гістологічного дослідження і вивчення композиції і синтезу ліпідів. Після фіксації аорти цілком забарвлюють з допомогою Sudan IV, наколюють в плоскому стані і отримують цифрові зображення за допомогою ТВ камери, сполученої з комп'ютеризованою системою аналізу зображень (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD) для визначення процента поверхні аорти, залученої до атеросклеротичних пошкоджень [Gerrity R. G. et al, *Diabetes* (2001) 50: 1654-65; Cornhill J.F. et al, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (1985) 5: 415-26; описи яких тим самим включені в даний опис за допомогою посилання у всій їх повноті]. Порівнюють між групами відсоток поверхні аорти, залученої до атеросклеротичних пошкоджень.

Зменшення відсотка поверхні аорти, залученої до атеросклеротичних пошкоджень, при введенні сполуки, береться як показник сполуки, що має вказане вище застосування.

#### Приклад 6

##### Аналіз зв'язування рецептора

У доповнення до способів, описаних в даному описі, інші засоби для оцінки сполуки, що досліджується, являють собою визначення афінності зв'язування з рецептором RUP25. Цей тип аналізу, як правило, вимагає радіоактивно-міченого ліганду рецептора RUP25. У відсутності використання відомих лігандів рецептора RUP25 і його радіоактивних міток, сполуки формули (I) можуть мітитися радіоактивним ізотопом і використовуватися при аналізі для оцінки афінності досліджуваної сполуки до рецептора RUP25.

Радіоактивно-мічена RUP25 сполука формули (I) може використовуватися при скринінговому аналізі для ідентифікації/оцінки сполук. У загальних термінах, наново синтезована або ідентифікована сполука (тобто, сполука, що досліджується) може оцінюватися на її здатність зменшувати зв'язування "радіоактивно-міченої" сполуки формули (I)" з рецептором RUP25. Відповідно, здатність конкурувати з "радіоактивно-міченою" сполукою формули (I)" або - лігандом з RUP25 за зв'язування з рецептором RUP25 безпосередньо корелює з її афінністю зв'язування сполуки, що досліджується, з рецептором RUP25.

Протокол аналізу для визначення зв'язування рецептора RUP25:

##### A. Приготування рецептора RUP25

Клітини 293 (нирки людини, ATCC), тимчасово трансфіковані 10мкг рецептора RUP25 людини і 60мкл ліпофектаміну (на 15-см чашку), вирощують в чашці протягом 24 годин (конфлюентність 75%) зі зміною середовища і видаляють за допомогою 10мл/чашку буфера Hepes-EDTA (20mM Hepes+10mM EDTA, pH7,4). Клітини центрифугують в центрифугі Beckman Coulter протягом 20 хвилин, при 17000об./хв. (ротатор JA-25.50). Потім осад після центрифугування ресуспендують в 20mM Hepes+1mM EDTA, pH7,4, гомогенізують з

допомогою 50-мл гомогенізатора Dounce і знов центрифугують. Після видалення супернатанта осідання після центрифугування зберігають при  $-80^{\circ}\text{C}$  до використання при аналізі зв'язування. Коли вони використовуються при аналізі, мембрани піддають відтаванню на льоду протягом 20 хвилин і потім додають 10мл буфера для інкубування (20мМ Hepes, 1мМ  $\text{MgCl}_2$ , 100мМ NaCl, pH7,4). Мембрани струшують для ресуспендування вихідного осаду після центрифугування мембран і гомогенізують з допомогою гомогенізатора Brinkmann RPTET-3100 Polytron протягом 15 секунд при настрійці 6. Концентрацію мембранних білків визначають з використанням аналізу білка BRL по Бредфорду.

#### В. Аналіз зв'язування

Для загального зв'язування, загальний об'єм 50мкл відповідним чином розведених мембран (розводять в буфері для аналізу, що містить 50мМ Трис HCl (pH7,4), 10мМ  $\text{MgCl}_2$  і 1мМ EDTA; 5-50мкг білка) додають в 96-ямові поліпропіленові планшети для мікротитрування, з подальшим додаванням 100мкл буфера для аналізу і 50мкл радіоактивно-міченого ліганду RUP25. Для неспецифічного зв'язування додають 50мкл буфера для аналізу замість 100мкл і перед додаванням 50мкл радіоактивно-міченого ліганду RUP25 додають додаткові 50мкл 10мМ холодного RUP25. Потім планшети інкубують при кімнатній температурі протягом 60-120 хвилин. Реакцію зв'язування завершують фільтруванням планшетів для аналізу через фільтраційну пластину Microplate Devices GF/C Unifilter з 96-ямовим планшетним харвестером Brandell, з подальшим промиванням холодним 50мМ Трис HCl, pH7,4, що містить 0,9% NaCl. Потім нижню сторону фільтраційної пластини герметизують, додають 50мкл Optiphasе SupermiX в кожен ямку, герметизують верхню сторону пластин і рахують пластини в сцинтиляційному лічильнику Trilux MicroBeta. Для конкурентних досліджень сполук, замість додавання 100мкл буфера для аналізу, у відповідну ямку додають 100мкл відповідним чином розведеної досліджуваної сполуки з подальшим додаванням 50мкл радіоактивно-міченого ліганду RUP25.

#### С. Обчислення

Спочатку досліджувані сполуки аналізують при концентрації 1 і 0,1мкМ і потім діапазон концентрацій вибирають таким чином, щоб середня доза викликала приблизно 50% інгібування зв'язування радіоактивного ліганду з RUP25 (тобто,  $\text{IC}_{50}$ ). Специфічне зв'язування за відсутності досліджуваної сполуки ( $B_0$ ) являє собою різницю загальне зв'язування ( $B_T$ ) мінус неспецифічне зв'язування (NSB), і, подібним чином, специфічне зв'язування (в присутності досліджуваної сполуки) (B) являє собою різницю заміне зв'язування (BD) мінус неспецифічне зв'язування (NSB).  $\text{IC}_{50}$  визначають по кривій реакції інгібування, подвійного логарифмічного графіка% B/ $B_0$  як функція концентрації досліджуваної сполуки.

$K_i$  обчислюють за допомогою перетворення Cheng and Prustoff:

$$K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [L]/K_D),$$

де [L] являє собою концентрацію використовуваного радіоактивно-міченого ліганду RUP25, що використовується при аналізі, і  $K_D$  являє собою константу дисоціації радіоактивно-міченого ліганду RUP25, що визначається незалежно при таких же умовах зв'язування.

D. Альтернативна методика аналізу зв'язування

Аналіз конкурентного зв'язування  $^3\text{H}$ -нікотинової кислоти.

Клітини CHO-K1 що стабільно експресують рецептор ніацину, використовують для отримання мембран для аналізу зв'язування. Клітини вирощують до  $\sim 80\%$  конфлюентності в середовищі росту (F-12 модифіковане середовище Kaighn (ATCC, #30-2004), що містить 10% FBS (GIBCO, #10438-026), 1мг/мл G418 (GIBCO, #10131-027) і 1X Pen-Strep (Sigma P-0871)), збирають за допомогою зіскрібання і центрифугують при  $12000 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ , 10 хвилин. Осади клітин ресуспендують в буфері для збору (20мМ HEPES, 10мМ EDTA, pH7,4) і гомогенізують за допомогою  $4 \times 10$  секундних сеансів роботи 12мМ гомогенізатора Polytron, настройка 5. Лізат центрифугують при  $2000 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ , 10 хвилин, для видалення нелізованих клітин і ядер, і отриманий супернатант центрифугують при  $39000 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ , 45 хвилин для осадження мембран. Отриманий осад ресуспендують в промивальному буфері (20мМ HEPES, 0,1мМ EDTA, pH7,4), гомогенізують за допомогою  $3 \times 10$  секунд сеансів роботи 12мМ Polytron, настройка 4, і повторно центрифугують при  $39000 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ , 45 хвилин. Отриманий осад ресуспендують в промивальному буфері і зберігають в рідкому азоті до використання. Концентрацію мембранних білків в цьому препараті визначають з використанням аналізу білків Pierce BCA, з BSA як стандарт.

Рівноважне зв'язування  $^3\text{H}$ -нікотинової кислоти здійснюють в 96-ямових поліпропіленових планшетах. Реакційні суміші утримують 140мкл мембран, розведених в буфері для аналізу (20мМ HEPES, pH7,4, 1мМ  $\text{MgCl}_2$ , і 0,01% CHAPS; 15-30мкг мембранних білків/аналіз), 20мкл сполук, що досліджуються, розводять в буфері для аналізу (вихідні розчини із сполукою знаходяться в 100% ДМСО; кінцева концентрація ДМСО при аналізі дорівнює 0,25%), і 40мкл 250нМ тритованого ніацину ([5,6- $^3\text{H}$ ]-нікотинової кислоти: American Radiolabeled Chemicals, Inc., 20мкМ в етанолі; кінцева концентрація етанолу при кожному аналізі дорівнює 1,5%). Неспецифічне зв'язування визначають в присутності 250мкМ неміченої нікотинової кислоти. Після перемішування протягом 3-4 годин при кімнатній температурі реакційні суміші фільтрують через пластини Packard Unifilter GF/C, з використанням Packard Harvester, і промивають  $8 \times 200$ мкл буфера для зв'язування, що знаходиться на льоду. Пластини сушать протягом ночі і їх зворотні сторони герметизують з використанням стрічки PerkinElmer, розробленої для пластин GF/C. Додають 40мкл сцинтиляційної рідини PerkinElmer Microscint-20 в кожен ямку, верхні сторони герметизують і аналізують пластини в сцинтиляційному лічильнику Packard TopCount.

Обчислення здійснюють, як вказано в С, вище.



Певні сполуки даного винаходу мають  $EC_{50}$  при аналізі конкурентного зв'язування  $^3H$ -нікотинової кислоти в діапазоні приблизно від 10 до приблизно 100мкМ. Більш переважні сполуки даного винаходу мають значення  $EC_{50}$  при цьому аналізі в діапазоні приблизно від 1 до приблизно 10мкМ. Ще більш переважні сполуки мають значення  $EC_{50}$  при цьому аналізі менше, приблизно, ніж 1мкМ.

#### Приклад 7

Спостереження гіперемії за допомогою Laser Doppler

Методика: Самців мишей C57B16 (~25г) анестезують з використанням 10мг/мл/кг нембуталу натрію. Коли мають вводитися антагоністи, їх вводять разом з анестезією за допомогою ін'єкцією нембуталу. Через десять хвилин тварину вміщують під лазер і відгинають вухо назад для експонування вентральної сторони. Лазер розташовують в центрі вуха і фокусують при інтенсивності 8,4-9,0V (як правило, ~4,5см вище вуха). Збір даних починають з формату зображення 15 на 15, автоматично вибраним інтервалом, 60 зображень і 20 секунд тимчасовою затримкою, при середньому розрізненні. Досліджувані сполуки вводять після 10-го зображення за допомогою ін'єкції в черевну порожнину. Зображення 1-10 розглядають як базовий рівень для тварини і дані нормують на середню інтенсивність базового рівня. Матеріали і методи див. Laser Doppler Pirimed Pimll; Ніацин (Sigma); нембутал (Abbott labs).

#### Приклад 8

Інгібування продукування вільних жирних кислот *in vivo* у катетеризованих самців щурів Sprague-Daly

Аналізи неестерифікованих вільних жирних кислот (NEFA) здійснюють на сироватці, отриманій від живих щурів, що вільно пересуваються. Катетери для яремної вени хірургічно імплантують в яремні вени і тваринам дають можливість для відновлення, щонайменше, протягом 48 годин після операції. Корм прибирають від тварин приблизно за 16 годин перед аналізом. Зразок ~200мкл крові витягують з катетера, і він являє собою зразок сироватки з базовим рівнем NEFA. Лікарський засіб вводять кожному щуру внутрішньочеревинно (IP) при різних концентраціях і потім ~200мкл зразки крові витягують з катетера у вказані моменти часу для додаткового аналізу NEFA. Аналізи NEFA здійснюють відповідно до вказівок виробника (Wako Chemicals, USA; NEFA C) і концентрації вільних жирних кислот визначають регресійним аналізом відомої однічної кривої (діапазон відомих вільних жирних кислот). Дані аналізують з використанням Excel і PrismGraph.

#### Приклад 9

Тепер даний винахід буде проілюстрований за допомогою наступних необмежувальних прикладів, в яких, якщо не вказано інакше:

(i) всі операції здійснюють при кімнатній температурі або при температурі навколишнього середовища, тобто, при температурі в межах 18-25°C;

(ii) випарювання розчинника здійснюють з використанням роторного випарника при зниженому

тиску (4,5-30мм.рт.ст.), при температурі бані до 50°C;

(iii) хід реакцій відстежують з допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ) і/або тандемної високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з подальшою мас-спектрометрією (МС), що називається РХМС, і будь-який час реакції наведений тільки для ілюстрації;

(iv) структуру всіх кінцевих сполук підтверджують за допомогою, щонайменше, одного з наступних методів: МС або спектрометрією протонного ядерного магнітного резонансу ( $^1H$  ЯМР), і чистоту підтверджують, щонайменше, одним з наступних методів: ТШХ або ВЕРХ;

(v) виходи, якщо наводяться, дані тільки для ілюстрації;

(vi) спектри  $^1H$  ЯМР реєструють або на приладі Bruker Avance-400, або на Varian Unity, або на приладі Varian Inova, при 400 або 500, або 600МГц, з використанням вказаного розчинника; коли вони перераховуються, дані ЯМР що знаходяться в формі значень дельта ( $\delta$ ) для основних діагностичних протонів, наведені в мільйонних частках (м.ч.) по відношенню до залишкових піків розчинника (мультиплетність і кількість атомів водню); звичайні скорочення, ті, що використовуються для форми сигналу являють собою: с. синглет; д. дублет (видимий); т. триплет (видимий); м. мультиплет; ушир, уширений;

(vii) дані МС реєструють на установці Waters Micromass або API 150EX, сполучений інтерфейсом з приладом ВЕРХ Hewlett-Packard (Agilent 1100) або Shimadzu (LC-10AD VP), і що працює на програмному забезпеченні MassLynx/OpenLynx або Analyst 1.2; електророзпилювальну іонізацію використовують з детектування позитивних ( $ES^+$ ) або негативних іонів ( $ES^-$ ); метод РХМС  $ES^+$  являє собою 1-2мл/хв., лінійний градієнт В, 10-95% протягом 5,5хв. (В=0,05% TFA-ацетонітрил, А=0,05% TFA-вода), і метод РХМС  $ES^-$  являє собою 1-2мл/хв., 10-95% лінійний градієнт В протягом 5,5хв. (В=0,1% мурашина кислота-ацетонітрил, А=0,1% мурашина кислота-вода), Waters XTerra C18, 3,5мкМ, 50×3,0мм внутрішній діаметр, і детектування за допомогою діодної матриці;

(viii) очищення сполук з допомогою препаративної ВЕРХ з оберненою фазою (ОФ-ВЕРХ) здійснюють або на Waters Symmetry Prep C18, 5мкМ, 30×100мм внутрішній діаметр, або на Waters Atlantis Prep dC18, 5мкМ, 20×100мм внутрішній діаметр; 20мл/хв., лінійний градієнт В 10-100% протягом 15хв. (В=0,05% TFA-ацетонітрил, А=0,05% TFA-вода), і детектування за допомогою діодної матриці;

(ix) автоматичне очищення сполук з допомогою препаративної ВЕРХ з оберненою фазою здійснюють на системі Gilson з використанням колонки YMC-Pack Pro C18 (150×20мм внутрішній діаметр), при елюванні 20мл/хв. з допомогою 0-50% ацетонітрилу у воді (0,1% TFA);

(x) очищення сполук з допомогою препаративної тонкошарової хроматографії (ПТШХ) здійснюють на 20×20 см скляних препаративних пластинах, покритих силікагелем, або за допомогою хроматографії з центрифугуванням на хроматот-

роні, з використанням скляних роторів, покритих силікагелем, обидва є комерційно доступними від Analtech;

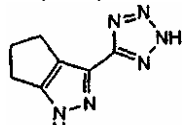
(xi) колонкову хроматографію здійснюють на колонці з силікагелем з використанням Kieselgel 60, 0,063-0,200mM (Merck).

(xii) мікрохвильове опромінення здійснюють з використанням Smith Synthesizer (Personal Chemistry).

(xiii) хімічні символи мають їх звичайні значення; також використовуються наступні скорочення об'єм (об'ємні), мас (масові), т.к. (температура кипіння), т.пл. (температура плавлення), л (літр (літри)), мл (мілілітри), г (грам (грами)), мг (міліграм (міліграми)), моль (молі), ммоль (мілімолі), екв. або еквів. (еквівалент (еквіваленти)), IC<sub>50</sub> (молярна концентрація, яка дає 50% від максимального можливого інгібування), EC<sub>50</sub> (молярна концентрація, яка дає 50% від максимальної можливої ефективності або реакції), мкМ (мікромолі), нМ (наномолі).

Наступні приклади наведені таким чином, щоб даний винахід міг бути зрозумілий повніше. Вони не повинні розглядатися як такі, що обмежують даний винахід будь-яким чином.

Приклад 9.1: 3-(2H-Тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 1)



Спосіб А: Отримання сполуки 1

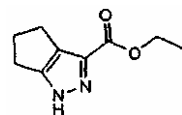
1,4,5,6-Тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрил (0,022г, 0,165ммоль) і азид натрію (0,086г, 1,30ммоль) поглинають ДМФА (3мл) при нагріванні мікрохвильовим опроміненням до 175°C протягом 20 хвилин. Розчин охолоджують до кімнатної температури, фільтрують і відфільтровану тверду речовину промивають етилацетатом. Об'єднані розчини додають до насиченого водного розчину бікарбонату натрію (20мл) і промивають етилацетатом. Водний шар підкисляють до pH1 додаванням 1М водного розчину хлористоводневої кислоти і екстрагують етилацетатом. Промивання етилацетату об'єднують і розчинник видаляють при зниженому тиску, отриману тверду речовину очищують препаративною ВЕРХ, з отриманням 3-(2H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу у вигляді білого твердого продукту (0,012г, 0,068ммоль, 41%).

<sup>1</sup>H ЯМР 6 (CD<sub>3</sub>OD): 2,88 (подібний т, 2H, J=7,0), 2,82 (подібний т, 2H, J=7,3), 2,64 (подібний квінтету, 2H, J=7,1);

m/z (ES<sup>+</sup>): 177 [M+H]<sup>+</sup>.

Проміжну сполуку 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрил отримують з використанням наступної методики.

Стадія А: Етиловий ефір 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти

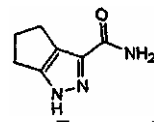


Циклопентанон (10,0г, 118,9ммоль) поглинають абсолютним етанолом (30мл) і додають етоксид натрію (53мл, 21% в етанолом, 143ммоль). Отриманий розчин перемішують в атмосфері аргону протягом 10 хвилин, потім додають діетилоксалат (19,1г, 131ммоль). Потім додають етанол (10мл), розчин нагрівають при 75°C протягом 3 годин і охолоджують до кімнатної температури. Додають гідрохлорид гідазину (8,15г, 119ммоль), розчиненим у воді (20мл), і розчин нагрівають при 75°C протягом ночі. Розчинник видаляють при зниженому тиску, залишок поглинають етилацетатом (200мл) і промивають водою (200мл), сушать (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фільтрують і видаляють розчинник при зниженому тиску, з отриманням етилового ефіру 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти у вигляді не зовсім білої твердої речовини (16,16г, 90,0ммоль, 76%).

<sup>1</sup>H ЯМР δ<sub>H</sub> (CD<sub>3</sub>OD): 4,34 (кв, 2H, J=7,1, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,78 (подібний т, 2H, J=7,0), 2,72 (ушир.с, 2H), 2,49 (ушир.с, 2H), 1,36 (т, 3H, J=7,1, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

m/z (ES<sup>+</sup>): 181 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадія В: Амід 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти

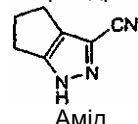


Етиловий ефір 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (0,808г, 4,48ммоль) поглинають метанольним розчином аміаку (приблизно 7М, 12мл) і перемішують протягом ночі при 95°C. Отриманий розчин охолоджують і обложений амід 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти збирають вакуумним фільтруванням у вигляді білої кристалічної твердої речовини (0,438г, 2,90ммоль, 65%).

<sup>1</sup>H ЯМР δ<sub>H</sub> (CD<sub>3</sub>OD): 2,79 (подібний т, 2H, J=6,9), 2,73 (подібний т, 2H, J=7,3), 2,55 (ушир.с, 2H);

m/z (ES<sup>+</sup>): 152 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадія С: 1,4,5,6-Тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрил.

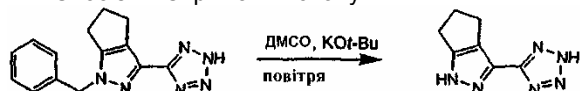


Амід 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (0,210г, 1,39ммоль) додають до безводного ацетонітрилу (12мл), нагрівають до 80°C і додають хлорид натрію (2,0г, 34ммоль). Через 15 хвилин додають оксихлорид фосфору (0,128г, 0,83ммоль), нагрівають розчин при 80°C протягом ночі, охолоджують, фільтрують і збирають тверду речовину, промити ацетонітрилом. Розчинник видаляють з об'єднаних розчинів при зниженому тиску і отриману тверду речовину очищують препаративною ВЕРХ, з отриманням 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу у вигляді твердої речовини глибокого пурпурного кольору (0,031г, 0,23ммоль, 17%).

$^1\text{H}$  ЯМР  $\delta_{\text{H}}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2,79 (подібний т, 2H,  $J=7,3$ ), 2,73 (подібний т, 2H,  $J=7,1$ ), 2,65-2,55 (м, 2H);

$m/z$  ( $\text{ES}^+$ ): 134  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Спосіб В: Отримання сполуки 1



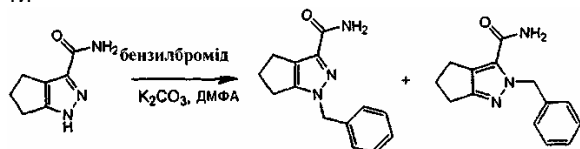
Повітря барботують через перемішуваний розчин 1-бензил-3-(2H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу (1,92г, 7,21ммоль) і трет-бутилату калію (65мл 1М розчину в ТГФ) в ДМСО (50мл) протягом 2,0 годин. Реакційну суміш підкисляють до pH=2 додаванням HCl (3М водний розчин). Суміш фільтрують і фільтрат концентрують у вакуумі для видалення летючих речовин. Отриманий продукт очищають ВЕРХ із оберненою фазою: колонка Phenomenex® Luna C18 (10мкМ, 250×50мм), з градієнтом від 5% (об'єм/об'єм)  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 50%  $\text{H}_2\text{O}$ , 60мл/хв.,  $\lambda=214\text{nm}$ . Продукт додатково очищають шляхом завантаження отриманого продукту на картридж Varian BondElut® 60мл, 10г SCX. MeOH (150мл) пропускають через колонку для видалення незв'язаних домішок. Потім продукт елюють пропусканням розчину 2N  $\text{NH}_3$  в MeOH (150мл) через колонку. Концентрування елюенту дає амонієву сіль сполуки 1 (947мг, 5,38ммоль, 75% вихід) у вигляді білої твердої речовини.

$^1\text{H}$  ЯМР (амонієва сіль, 400МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  2,88 (2H, т,  $J=6,8\text{Гц}$ ), 2,74 (2H, т,  $J=6,8\text{Гц}$ ), 2,52 (2H, квінтет,  $J=6,8\text{Гц}$ ).

ВЕРХ/МС: колонка Alltech® Prevail C18 (5мкМ, 50×2,1мм), з градієнтом від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,75мл/хв.,  $t_r=1,22\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=177,3$  (M+H). Аналіз, обчислено для  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_6$  (нейтральна сполука): С, 47,72; Н, 4,58. Знайдено: С, 47,27; Н, 4,16. Аналіз, обчислено для  $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_7$  (амонієва сіль): С, 43,51; Н, 5,74. Знайдено: С, 42,94; Н, 5,30.

Проміжну сполуку 1-бензил-3-(2H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол отримують з використанням наступної методики.

Стадія А: Отримання аміду 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і аміду 2-бензил-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



До розчину аміду 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (2,57г, 17,0ммоль), що перемішується в ДМФА (34мл) при 25°C, додають  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (5,87г, 42,5ммоль) і потім бензилбромід (4,36г, 25,5ммоль). Реакційну суміш перемішують при температурі навколишнього середовища протягом 16 годин, в цей час суміш розбавляють EtOAc (75мл) і фільтрують. Фільтрат промивають  $\text{H}_2\text{O}$

(100мл) і водну фазу знов екстрагують EtOAc (75мл) і  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (75мл). Об'єднані органічні екстракти сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Очищення хроматографією на силікагелі (градієнт від 50% EtOAc в гексані до 95% EtOAc в гексані) дає амід 2-бензил-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (739мг, 3,07ммоль, 18% вихід), виділений у вигляді білої твердої речовини, і потім амід 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (3,24г, 13,4ммоль, 79% вихід), виділений у вигляді білої твердої речовини.

Амід 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти

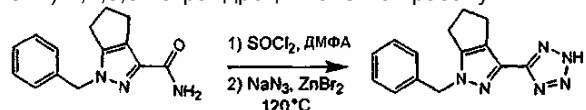
$^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,37-7,30 (3H, м), 7,19 (2H, м), 6,67 (2H, ушир.с), 5,34 (1H, ушир.с), 5,19 (2H, с), 2,82 (2H, м), 2,51 (4H, м).  $^{13}\text{C}$  АРТ ЯМР (100МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  вгору: 164,8, 155,2, 139,0, 136,0, 129,5, 55,3, 31,2, 24,1; вниз: 129,0, 128,3, 127,8.

ВЕРХ/МС: колонка Alltech® Prevail C18 (5мкМ, 50×4,6мм), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 3,5мл/хв,  $t_r=2,13\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=242,2$  (M+H).)

Амід 2-бензил-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти  $^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,34-7,21 (5H, м), 5,76 (2H, с), 5,70-5,38 (2H, ушир.с), 2,78 (4H, м), 2,49 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  АРТ ЯМР (100МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  вгору: 161,9, 160,1, 138,3, 128,3, 127,1, 55,1, 29,9, 24,8, 24,7; вниз: 128,6, 128,0, 127,6.

ВЕРХ/МС: колонка Alltech® Prevail C18 (5мкМ, 50(4,6мм), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 3,5мл/хв.,  $t_r=1,98\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=242,1$  (M+H).

Стадія В: Отримання 1-бензил-3-(2H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу



До розчину аміду 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (3,02г, 12,53ммоль) в ДМФА (25мл) при кімнатній температурі додають тіонілхлорид (1,94г, 16,3ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом 18 годин, в цей час додають  $\text{NaHCO}_3$  (насичений водний розчин, 6мл) для гасіння надлишку тіонілхлориду. Суміш розбавляють EtOAc (150мл) і послідовно промивають  $\text{NaHCO}_3$  (насичений водний розчин, 100мл) і насиченим розчином солі (100мл). Водні промивання зворотно екстрагують EtOAc (2×100мл) і об'єднані органічні шари сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі, з отриманням неочищеного жовтого масла.

Концентрат розчиняють в ДМФА (20мл) і вміщують в товстостінну герметичну реакційну ємність, в цей час до нього послідовно додають  $\text{ZnBr}_2$  (4,70г, 18,0ммоль) і  $\text{NaN}_3$  (2,73г, 42,0ммоль). Ємність герметизують і нагрівають при 120°C протягом 18 годин. Суміш охолоджують до кімнатної

температури і додають HCl (3М водний розчин, 2мл), і перемішування продовжують протягом 5хв. Суміш розбавляють EtOAc (150мл) і промивають HCl (1М, водний розчин, 100мл). Органічні шари сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують. Очищення хроматографією на силікагелі (градієнт від 50:50:0,2, гексан:EtOAc:AcOH до 100:0,2, EtOAc:AcOH) дає 1-бензил-3-(2Н-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (2,06г, 7,74ммоль, 62% вихід) у вигляді білої твердої речовини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,36-7,25 (5H, м), 5,30 (2H, с), 2,84 (2H, т, J=6,4Гц), 2,62-2,56 (4H, м). <sup>13</sup>C АРТ ЯМР (100МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ вверх: 153,8, 151,9, 137,6, 131,5, 128,9, 55,8, 31,9, 24,8, 24,6; вниз: 129,9, 129,1, 129,0.

ВЕРХ/МС: колонка Discovery® C18 (5мкМ, 50 (2,1мм), градієнт від 5% об'єм/об'єм CH<sub>3</sub>CN (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в H<sub>2</sub>O (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 99% об'єм/об'єм CH<sub>3</sub>CN в H<sub>2</sub>O, 0,75мл/хв., t<sub>r</sub>=2,18хв., ESI<sup>+</sup>=267,1 (M+H).)

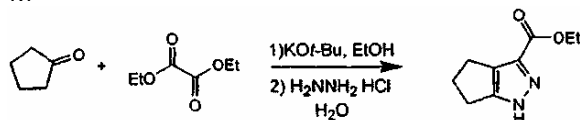
Спосіб С: Отримання сполуки 1



До розчину 1-бензил-3-(2Н-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу (59,4г, 223ммоль) в 10% суміші мурашина кислота/MeOH (об'єм/об'єм, 900мл) додають паладієву чернь (39,8г, 374ммоль). Суміш механічно перемішують в атмосфері N<sub>2</sub> протягом 24 годин. Реакційну суміш фільтрують і концентрують. Продукт додатково очищують і перетворюють в амонієву сіль таким чином: завантажують отриманий продукт (як розчин в MeOH) в колонку, що містить смола Bondesil SCX SPE (750г). Колонку промивають MeOH (2,0л) для видалення незв'язаних домішок. Продукт елюють з використанням 2н NH<sub>3</sub>/MeOH (приблизно 1,5л). При концентруванні амонієву сіль тетразолу (39,3г, 203ммоль, 91% вихід) отримують у вигляді білої твердої речовини.

Проміжну сполуку 1-бензил-3-(2Н-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол отримують з використанням наступної методики.

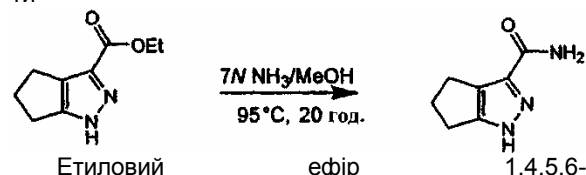
Стадія А: Отримання етилового ефіру 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



До розчину цикlopentanону (42,0г, 0,50моль) і діетилоксалату (73,1г, 0,50моль) в EtOH (2,5л) при кімнатній температурі в атмосфері N<sub>2</sub> додають розчин трет-бутилату калію в ТГФ (500мл 1М розчину, 0,50моль) протягом 0,5 години через крапельну лійку. Реакційну суміш перемішують протягом 3,5 годин, в цей час колбу охолоджують до 0°C. Гідроксид гідразину (37,6г, 0,55моль) в H<sub>2</sub>O (250мл) додають через крапельну лійку протягом 0,5 години. Реакційну суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 16 годин. Летючі речовини видаляють у вакуумі і отриману тверду речовину промивають NaHCO<sub>3</sub> (насичений

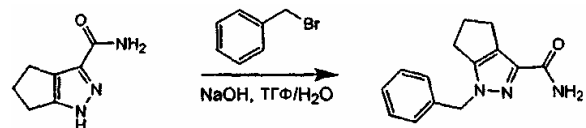
водний розчин, 500мл) і H<sub>2</sub>O (500мл). Додаткове концентрування у вакуумі дає чистий етиловий ефір 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (63,6г, 0,35моль, вихід 71%) у вигляді жовтої твердої речовини.

Стадія В: Отримання аміду 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



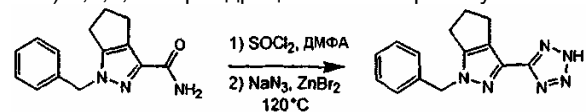
Етиловий ефір 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (63,5г, 0,35ммоль) розчиняють в розчині 7Н NH<sub>3</sub>/MeOH (1,0л). Розчин розділяють на чотири рівні порції, кожну з яких переносять в 350мл товстостінну герметичну реакційну ємність. Ємності нагрівають до 95°C і перемішують протягом 20 годин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, в цей час тверда речовина осаджується. Розчин фільтрують і тверду речовину промивають NaOH (1н водний розчин, 200мл) з отриманням чистого аміду 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (42,0г, 0,20моль, 80% вихід) у вигляді білої твердої речовини.

Стадія С: Отримання аміду 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і аміду 2-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



До розчину аміду 1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (41,5г, 275ммоль) в ТГФ (460мл) при кімнатній температурі додають розчин NaOH (5н водний розчин, 110мл, 0,54моль). Після перемішування протягом 5хв. додають бензилбромід (49,2г, 0,29моль) і реакційну суміш перемішують протягом 16 годин. Летючі речовини видаляють у вакуумі і отриману тверду речовину промивають H<sub>2</sub>O (3×250мл). Додаткове концентрування дає регіоізомери аміду 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і аміду 2-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (65,3г, 270ммоль, вихід 98%) у вигляді суміші 20:1, яку використовують без розділення.

Стадія D: Отримання 1-бензил-3-(2Н-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу

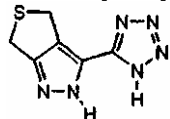


У колбу, забезпечену сушильною трубкою, завантажують безводний ДМФА (250мл) в атмосфері N<sub>2</sub>. Колбу охолоджують до 0°C і додають тіонілхлорид (36,7г, 309ммоль) за допомогою шприца протягом періоду 5хв. Після перемішування протя-

гом додаткових 10хв. додають розчин амідру 1-бензил-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (67,7г, 281ммоль) в ДМФА (310мл) протягом 5хв. з використанням крапельної лійки. Суміш повільно нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 16 годин. Додають  $\text{NaHCO}_3$  (насичений водний розчин, 100мл) і суміш перемішують протягом 10хв. Летючі речовини видаляють у вакуумі і залишок розбавляють  $\text{EtOAc}$  (700мл) і  $\text{NaHCO}_3$  (насичений водний розчин, 700мл). Шари розділяють і водну фазу знов екстрагують  $\text{EtOAc}$  (400мл). Об'єднані органічні шари промивають  $\text{NaHCO}_3$  (насичений водний розчин, 600мл) і насиченим розчином солі (600мл), сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і концентрують, з отриманням 63,1г нітрилу у вигляді коричневої твердої речовини.

До розчину нітрилу (отриманого вище) в ДМФА (560мл) додають  $\text{ZnBr}_2$  (95,6г, 425ммоль) і потім  $\text{NaN}_3$  (55,2г, 849ммоль). Суміш нагрівають до  $120^\circ\text{C}$  і перемішують протягом 14 годин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і ДМФА видаляють у вакуумі. Додають  $\text{HCl}$  (2н водний розчин, 800мл) і суміш перемішують протягом 15хв., потім фільтрують. Тверду речовину додають до двофазної суміші  $\text{EtOAc}$  (500мл) і  $\text{HCl}$  (5н водний розчин, 300мл) і перемішують протягом 0,5 години. Розчин фільтрують і шари розділяють. Тверду речовину, що залишилася, знов обробляють  $\text{EtOAc}$  і  $\text{HCl}$  (5н водний розчин), як описано вище, і цей процес (перемішування, фільтрування, розділення) повторюють доти, поки всі тверді речовини не розчиняться. Об'єднані органічні фільтрати концентрують, з отриманням 1-бензил-3-(2Н-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу (61,0г, 229ммоль, вихід 81% з амідру) у вигляді ясно-коричневої твердої речовини.

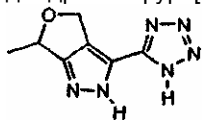
Приклад 9.2: 3-(1Н-Тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-тієно[3,4-с]піразол (сполука 2)



Сполуку 2 отримують способом, подібно описаному в прикладі 9.1, і характеризують ЯМР і МС;  $^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{MeOD}$ ): (400МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  4,11 (дд,  $J=4,0$ , 2,2Гц, 2Н), 4,03 (дд,  $J=3,6$ , 2,2Гц, 2Н).

ВЕРХ/МС: колонка Waters® YMC ODS-A C18 (5мкМ,  $50\times 4,6\text{мм}$ ), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 3,5мл/хв.,  $t_r=1,27\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=194$  (М+Н).

Приклад 9.3: 6-Метил-3-(1Н-тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-фуру[3,4-с]піразол (сполука 3)



Сполуку 3 отримують способом, подібно до описаного в прикладі 9.1, розділення регіоізомерів

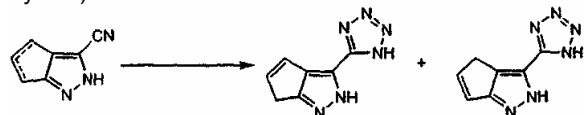
колонковою хроматографією здійснюють після утворення піразолу.

Сполуку 3 характеризують ЯМР і МС;

$^1\text{H}$  ЯМР (400МГц, ДМСО):  $\delta$  5,20 (м, 1Н), 4,94 (дд,  $J=34,7$ , 10,3Гц, 2Н), 1,39 (д,  $J=4,4\text{Гц}$ , 3Н).

ВЕРХ/МС: колонка Alltech® Prevail C18 (5мкМ,  $50\times 4,6\text{мм}$ ), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 3,5мл/хв.,  $t_r=1,03\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=192$  (М+Н).

Приклад 9.4: 3-(1Н-Тетразол-5-іл)-1,4-дигідроциклопентапіразол (сполука 4) і 3-(1Н-тетразол-5-іл)-1,6-дигідроциклопентапіразол (сполука 5)



Сполука 9.4 А

Розчин сполуки 9,4 А у вигляді ізомерної суміші (50мг, 0,38ммоль), азиду натрію (86,5мг, 1,33ммоль) і броміду цинку (300мг, 1,33ммоль) в ДМФА (2мл) опромінюють мікрохвилями при  $200^\circ\text{C}$  протягом 6 годин. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш обробляють 2н розчином  $\text{HCl}$ , екстрагують  $\text{EtOAc}$ , промивають  $\text{H}_2\text{O}$  і концентрують у вакуумі. Розділення ВЕРХ (колонка C18, від 5 до 99%  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ ) дає 40,3мг (61%) бажаного продукту у вигляді суміші 2:1 олефінових ізомерів. РХ-МС  $m/z$  175 (М+1);

$^1\text{H}$  ЯМР (400МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  6,94 (м, 0,5Н), 6,87 (м, 1Н), 6,76 (м, 1Н), 6,40 (м, 0,5Н), 3,35 (м, 3Н).

Ізомери розділяють ВЕРХ з оберненою фазою: колонка Phenomenex® Luna C18 (10мкМ,  $250\times 21,2\text{мм}$ ), градієнт від 5% (об'єм/об'єм)  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) до 70%  $\text{H}_2\text{O}$ , 20мл/хв.,  $\lambda=280\text{нм.}$

Альтернативно, ізомери розділяють ВЕРХ з нормальною фазою: колонка Dynatax Microsorb Si (препаративна) (8мкМ, 250 (10мм), градієнт від 80% (об'єм/об'єм)  $\text{EtOAc}$  (що містить 2% об'єм/об'єм  $\text{AcOH}$ ) в гексані (що містить 2% об'єм/об'єм  $\text{AcOH}$ ) до 99%  $\text{EtOAc}$ , 7,5мл/хв.,  $\lambda=280\text{нм.}$  Порядок елювання ізомерів є однаковим для колонок як з нормальною, так і з оберненою фазою.

Ізомер 1 (ізомер з високим  $R_f$ ):

$^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{MeOD}$ ):  $\delta$  6,79 (2Н, м), 3,42 (2Н, м).

ВЕРХ/МС: колонка Discovery® C18 (5мкМ,  $50\times 2,1\text{мм}$ ), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,75мл/хв.,  $t_r=1,10\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=174,9$  (М+Н).

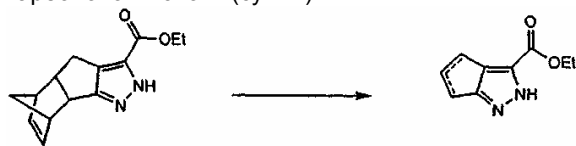
Ізомер 2 (ізомер з низьким  $R_f$ ):

$^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{MeOD}$ ):  $\delta$  6,98 (1Н, м), 6,44 (1Н, м), 3,33 (2Н, м).

ВЕРХ/МС: колонка Discovery® C18 (5мкМ,  $50\times 2,1\text{мм}$ ), градієнт від 5% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) в  $\text{H}_2\text{O}$  (що містить 1% об'єм/об'єм  $\text{TFA}$ ) до 99% об'єм/об'єм  $\text{CH}_3\text{CN}$  в  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,75мл/хв.,  $t_r=1,11\text{хв.}$ ,  $\text{ESI}^+=175,1$  (М+Н).

Проміжну сполуку 9.4А у вигляді ізомерної суміші отримують з використанням наступних стадій:

Стадія А: Отримання етилового ефіру 2,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і етилового ефіру 2,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)



Сполука 9.4В

Сполука 9.4С

Сполуку 9.4В отримують з відповідного кетону, з використанням способу, подібно до описаного вище для отримання складного ефіру піразолу (див. приклад 14,2). Розчин сполуки 9.4В (2,0г, 8,19ммоль) в простому фенольному ефірі (25мл) кип'ятять із зворотним холодильником (250-260°C) в атмосфері азоту протягом 2 годин.

Після охолодження розчину до кімнатної температури його завантажують в колонку SiO<sub>2</sub>, промивають DCM, для видалення простого фенольного ефіру, і елюють EtOAc/Hex (1/3) з отриманням 1,05г (72%) сполуки 9.4С у вигляді суміші олефінових ізомерів. PX-MC m/z 179 (M+1).

Стадія В: Отримання амиду 2,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і амиду 2,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)

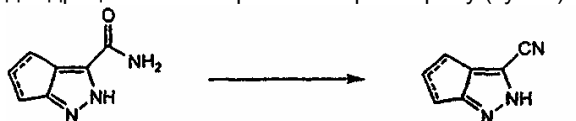


Сполука 9.4С

Сполука 9.4D

Сполуку 9.4С у вигляді ізомерної суміші, (1,0г, 5,61ммоль), розчиняють в дуже невеликій кількості діоксану (<5мл) і змішують з 28% розчином гідроксиду амонію (100мл) в щільно закритому контейнері. Розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 24 годин і концентрують у вакуумі з отриманням сполуки 9.4D у вигляді ізомерної суміші, у вигляді твердої речовини з кількісним виходом. PX-MC m/z 150 (M+1).

Стадія С: Отримання 2,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 2,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)

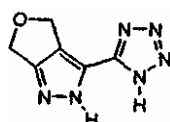


Сполука 9.4D

Сполука 9.4А

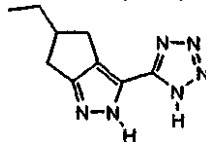
До суспензії сполуки 9.4D у вигляді ізомерної суміші (0,80г, 5,36ммоль) і карбонату калію (0,445г, 3,22ммоль) в ацетонітрилі (30мл) додають POCl<sub>3</sub> (0,785мл, 8,58ммоль) при кімнатній температурі. Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 2 годин. Після концентрування у вакуумі залишок розбавляють EtOAc (150мл), промивають H<sub>2</sub>O і насиченим розчином солі, сушать (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрують з отриманням 141мг (20%) сполуки 9.4А у вигляді ізомерної суміші. PX-MC m/z 132 (M+1).

Приклад 9.5: 3-(1Н-Тетразол-5-іл)-2,6-дигідро-4Н-фуоро[3,4-с]піразол (сполука 6)



Сполуку 6 отримують способом, подібно до описаного в прикладі 9.1, і характеризують ЯМР і МС; PX-MC m/z 179 (M+1); <sup>1</sup>H ЯМР (400МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 5,07 (т, J=2,2Гц, 2H), 4,92 (т, J=2,2Гц, 2H).

Приклад 9.6: 5-Етил-3-(1Н-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 7)

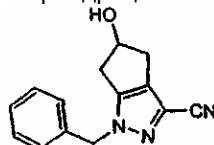


Сполуку 7 отримують способом, подібно до описаного в прикладі 9.1, і характеризують ЯМР і МС;

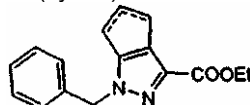
<sup>1</sup>H ЯМР (MeOD, 400МГц): δ 3,07 (1H, дд, J=14,8, 7,6Гц), 2,94-2,82 (2H, м), 2,51 (1H, дд, J=15,2, 6,8Гц) 2,41 (1H, дд, J=13,6, 5,6Гц), 1,6 (2H, м), 1,02 (3H, т, J=7,2Гц).

ВЕРХ/МС: колонка Discovery® C18 (5мкМ, 50×2,1мм), градієнт від 5% об'єм/об'єм CH<sub>3</sub>CN (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) в H<sub>2</sub>O (що містить 1% об'єм/об'єм TFA) до 99% об'єм/об'єм CH<sub>3</sub>CN в H<sub>2</sub>O, 0,75мл/хв., t<sub>r</sub>=1,42хв., ESI<sup>+</sup>=205,2 (M+H).

Приклад 9.7: Отримання проміжної сполуки 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопента[с]піразол-3-карбонітрилу

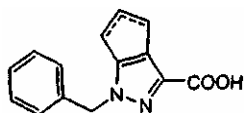


Стадія А: Отримання етилового ефіру 1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і етилового ефіру 1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)



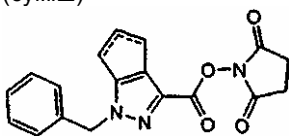
До розчину піразолу (сполука 9.4С, див. приклад 9.4, стадія А, 2,0г, 11,22ммоль) в безводному ТГФ (100мл) додають бензилбромід (5,36ммоль, 44,88ммоль) і NaOH (1,79г, 44,88ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 1 години реакцію гасять 1н HCl (100мл). Отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають 1н HCl, насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub>, насиченим розчином солі і сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Розчин фільтрують і концентрують у вакуумі. Продукт очищують флеш-хроматографією на колонці 40М Biotage (SiO<sub>2</sub>) з використанням 30% суміші етилацетат-гексан. Отримують безбарвне масло. PX-MC: 3,22хв.; (M+Na)=291,1.

Стадія В: Отримання 1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і 1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)



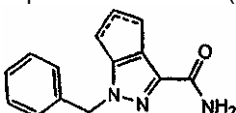
До розчину проміжної сполуки зі стадії А (3,55г, 13,23ммоль) в 1:1 ТГФ/МеОН (40мл) додають розчин NaOH (5н, 3,9мл, 20ммоль). Через 3 години при кімнатній температурі, реакцію гасять додаванням 1н HCl (22мл). Водний шар екстрагують етилацетатом (3×), сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують у вакуумі. Отримують жовту тверду речовину, яку використовують на наступній стадії без додаткового очищення. PX-MC: 2,62хв.; (M+H)=241,1.

Стадія С: Отримання 2,5-діоксопіролідін-1-ілового ефіру 1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і 2,5-діоксопіролідін-1-ілового ефіру 1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)



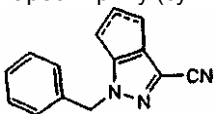
До розчину проміжної сполуки зі стадії В (3,17г, 13,23ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200мл) додають N-гідроксисукцинімід (3,04г, 26,46ммоль) і потім EDC (5,07г, 26,46ммоль). Після перемішування реакційної суміші при кімнатній температурі протягом 18 годин її концентрують у вакуумі. Залишок розбавляють етилацетатом (200мл), промивають насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> і насиченим розчином солі. Органічний шар сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують у вакуумі. Отримують жовту тверду речовину. PX-MC: 2,99хв.; (M+H)=338,1.

Стадія D: Отримання амиду 1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти і амиду 1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти (суміш)



До розчину проміжної сполуки зі стадії С (4,45г, 13,22ммоль) в 1,4-діоксані (150мл) додають NH<sub>4</sub>OH (14,8н, 10,0екв., 9,1мл). Відразу ж утворюється осад. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15 хвилин реакційну суміш фільтрують через лійку зі спеченим фільтром і промивають осад 1,4-діоксаном. Фільтрат концентрують у вакуумі з отриманням жовтої твердої речовини. PX-MC: 2,55хв.; (M+H)=240,1.

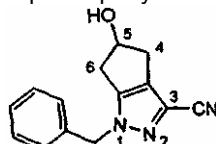
Стадія Е: Отримання 1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки зі стадії D в безводному ДМФА (50мл) додають ціанурхлорид (2,33г, 13,2ммоль). Після перемішування при кім-

натній температурі протягом 15 хвилин реакцію гасять, виливаючи у воду (100мл). Отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим NaHCO<sub>3</sub>, насиченим розчином солі, сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищують флеш-хроматографією на колонці 40М Biotage (SiO<sub>2</sub>) з використанням суміші 20% етилацетат-гексан. Отримують білу тверду речовину. PX-MC: 3,22хв.; (M+H)=222,2.

Стадія F: Отримання 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу



До розчину проміжної сполуки зі стадії Е (0,95г, 4,29ммоль) в безводному ТГФ (40мл), охолодженого до 0°C в атмосфері N<sub>2</sub>, додають боран-ТГФ (23ммоль, 5,36екв., 1,0М розчин). Реакційну суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 1 години. Потім реакційну суміш охолоджують до 0°C. Додають воду (3мл) і потім NaOH (4,29ммоль, 1,43мл, 3н) і H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12,88ммоль, 1,32мл, 30% розчин у воді). Після нагрівання реакційної суміші при 50°C протягом 30 хвилин її охолоджують до кімнатної температури і гасять додаванням води. Отриману суміш екстрагують етилацетатом (3×). Органічний шар сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищують флеш-хроматографією з використанням суміші 30% етилацетат-гексан, з отриманням суміші C-5 і C-6 спиртів 1:1.

Менш полярний ізомер (C-6 спирт, сполука 17):

<sup>1</sup>H ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,2 (м, 5H), 5,35 (д, J=14,9Гц, 1H), 5,31 (д, J=14,6Гц, 1H), 4,99 (дд, J=3,4 6,9Гц, 1H), 2,9 (м, 2H), 2,6 (м, 1H), 2,35 (м, 1H).

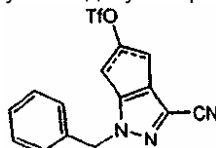
PX-MC: 2,76хв.; (M+H)=240,1.

Більш полярний ізомер (C-5 спирт):

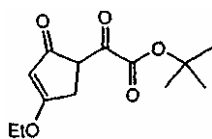
<sup>1</sup>H ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,4-7,2 (м, 5H), 5,28 (д, J=14,8Гц, 1H), 5,25 (д, J=14,9Гц, 1H), 5,01 (м, 1H), 3,13 (дд, J=6,4, 15,8Гц, 1H), 2,89 (дд, J=6,6, 16,2Гц, 1H), 2,68 (дд, J=3,1, 16,0Гц, 1H), 2,52 (дд, J=3,4, 16,2Гц, 1H).

PX-MC: 2,60хв.; (M+H)=240,1.

Приклад 9.8: Отримання проміжної сполуки 1-бензил-3-ціано-1,6-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти і 1-бензил-3-ціано-1,4-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти у вигляді суміші регіоізомерів

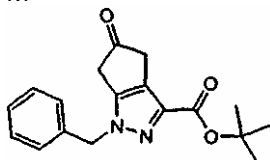


Стадія A: Отримання трет-бутилового ефіру (4-етоксі-2-оксоциклопент-3-еніл)оксооцтової кислоти



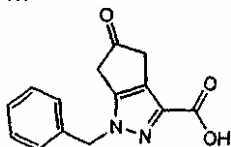
До розчину 3-етоксициклопентенону (2,12г, 16,82ммоль) в безводному ТГФ (40мл), охолодженого до  $-78^{\circ}\text{C}$ , в атмосфері азоту додають діізопропіламід літію (12мл, 24ммоль, 2,0М в ТГФ). Через 15 хвилин додають розчин ди-трет-бутилдіоксالاتу (3,73г, 18,5ммоль) в ТГФ (15мл). Реакційну суміш перемішують при  $-78^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хвилин, потім нагрівають до  $-20^{\circ}\text{C}$  і перемішують протягом додаткових 15 хвилин. Реакційну суміш гасять 1н НСІ (40мл) і екстрагують етилацетатом (3х). Органічний шар промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 35% суміші етилацетат-гексан, з отриманням бажаного продукту (2,53г) у вигляді не зовсім білої твердої речовини.

Стадія В: Отримання трет-бутилового ефіру 1-бензил-5-оксо-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



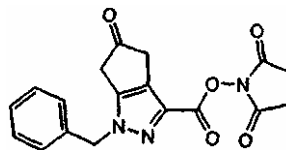
До розчину проміжної сполуки зі стадії А (2,15г, 8,45ммоль) в етанолі (100мл) додають бензилгідрохлорид гідразину (1,8г, 9,22ммоль) і НОАс (10мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин і потім кип'ятять із зворотним холодильником при  $70^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвилин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в етилацетаті і промивають водою, насиченим  $\text{NaHCO}_3$  і насиченим розчином солі. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 30% суміші етилацетат-гексан, з отриманням бажаного продукту (1,64г) у вигляді коричневого масла.

Стадія С: Отримання 1-бензил-5-оксо-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



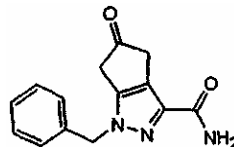
До розчину проміжної сполуки зі стадії В (1,64г, 5,25ммоль) в дихлорметані (20мл) додають трифтороцтову кислоту (20мл) і отриманий розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш концентрують у вакуумі і піддають азеотропній перегонці з толуолом (3х). Отриманий продукт переносять на наступну стадію без додаткового очищення.

Стадія D: Отримання 2,5-діоксопіролідін-1-ілового ефіру 1-бензил-5-оксо-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



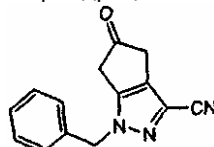
До розчину проміжної сполуки зі стадії С (1,34г, 5,25ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50мл) додають N-гідроксисукцинімід (1,21г, 10,5ммоль) і потім EDC (2,01г, 10,5ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 18 годин реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розбавляють етилацетатом (200мл), промивають насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і насиченим розчином солі. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Отримують жовту тверду речовину.

Стадія Е: Отримання аміду 1-бензил-5-оксо-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



До розчину проміжної сполуки зі стадії D (2,0г, 5,25ммоль) в 1,4-діоксані (50мл) додають  $\text{NH}_4\text{OH}$  (14,8н, 10,0екв., 3,53мл). Відразу ж утворюється осад. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15 хвилин реакційну суміш фільтрують через лійку зі спеченим фільтром і осад промивають 1,4-діоксаном. Фільтрат концентрують у вакуумі з отриманням твердої речовини.

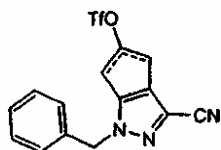
Стадія F: Отримання 1-бензил-5-оксо-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу



До розчину проміжної сполуки зі стадії Е (5,25ммоль) в ДМФА (60мл) додають ціанурхлорид (3,12г, 17ммоль) трьома порціями. Після втримання 30 хвилин при кімнатній температурі реакцію гасять водою і екстрагують етилацетатом (2х). Органічний шар промивають водою, насиченим розчином солі і сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 30% суміші етилацетат-гексан, з отриманням бажаного продукту (0,95г) у вигляді жовтої твердої речовини.

Стадія G: Отримання 1-бензил-3-ціано-1,6-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти і 1-бензил-3-ціано-1,4-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти (суміш)



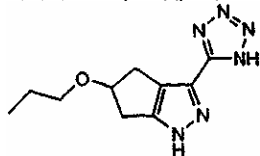


До розчину проміжної сполуки зі стадії F (447мг, 1,87ммоль) в безводному ТГФ (14мл) при -78°C додають розчин свіжоприготованого діізопропіламиду літію (1,89ммоль) в ТГФ (6мл). Після перемішування реакційної суміші при -78°C протягом 30 хвилин додають 2-[N,N-біс(трифторметилсульфоніл)амін]-5-хлорпіридин (1,4г, 3,6ммоль). Реакційну суміш нагрівають до -20°C і перемішують протягом 3 годин. Реакційну суміш гасять насиченим розчином  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають 1н розчином  $\text{HCl}$ , насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчин фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають на хроматотроні з використанням 2000-мікронного ротора ( $\text{SiO}_2$ ) і 5% суміші етилацетат-гексан як елюенту, з отриманням 393мг бажаного продукту у вигляді суміші 2:1 регіоізомерів з подвійним зв'язком.

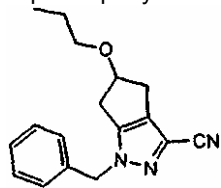
$^1\text{H}$  ЯМР (500МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): (основний ізомер)  $\delta$  7,45-7,3 (м, 5H), 6,06 (ушир.т, 1H), 5,41 (с, 2H), 3,56 (ушир.д, 2H).  $^1\text{H}$  ЯМР (500МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): (додатковий ізомер)  $\delta$  7,45-7,3 (м, 5H), 6,63 (ушир.т, 1H), 5,39 (с, 2H), 3,18 (ушир.д, 2H).

PX-MS: (M+H)=370,25.

Приклад 9.9: 5-Пропокси-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 12)

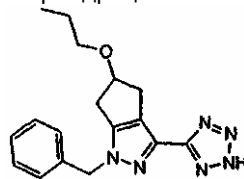


Стадія А: Отримання і-бензил-5-пропокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу



До розчину 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопента[с]піразол-3-карбонітрилу (див. приклад 9.7, 30мг, 0,125ммоль) в безводному ДМФА (2мл) додають гідрід натрію (6мг, 0,15ммоль, 60% дисперсія в маслі). Після перемішування протягом 3 хвилин додають пропілбромід (14мкл, 0,15ммоль) і отриману суміш перемішують протягом години. По закінченні цього часу додають гідрід натрію (6мг, 0,15ммоль, 60% дисперсія в маслі) і пропілбромід. Через 30 хвилин, реакцію гасять додаванням насиченого  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3мл). Отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають ПТШХ ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 15% суміші етилацетат-гексан, отримуючи бажаний продукт.

Стадія В: Отримання 1-бензил-5-пропокси-3-(2H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу



До розчину проміжної сполуки зі стадії А (25мг, 0,089ммоль) в 2-пропанолі (1мл) додають воду (2мл), азид натрію (14мг, 0,222ммоль) і бромід цинку (10мг, 0,04ммоль). Після нагрівання реакційної суміші при 90°C протягом 18 годин її охолоджують до кімнатної температури і додають  $\text{HCl}$  (3мл, 3н). Реакційну суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають ПТШХ ( $\text{SiO}_2$ , з використанням 100% етилацетату, отримуючи бажаний продукт.

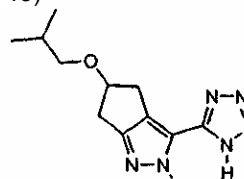
Стадія С: 5-Пропокси-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 12)

До розчину проміжної сполуки зі стадії В (26мг, 0,08ммоль) в ДМСО (0,6мл) додають трет-бутоксид калію (0,6мл, 0,6ммоль, 1,0М в ТГФ). Газоподібний кисень барботують через реакційну суміш протягом 15 хвилин. Реакційну суміш гасять  $\text{HCl}$  (3мл, 3н). Отриману суміш екстрагують етилацетатом (5х), сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають ВЕРХ із зверненою фазою з отриманням вказаної в заголовку сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,80 (м, 1H), 3,51 (м, 2H), 3,24 (дд,  $J=6,8$ , 15,5Гц, 1H), 3,18 (дд,  $J=6,9$ , 16,0Гц, 1H), 2,85 (дд,  $J=4,1$ , 15,6Гц, 1H), 2,79 (дд,  $J=4,4$ , 16,1Гц, 1H), 1,62 (м, 2H), 0,96 (т,  $J=7,6$ Гц, 3H).

PX-MS: 2,15хв.; (M+H)=235.

Приклад 9.10: 5-Ізобутокси-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 15)

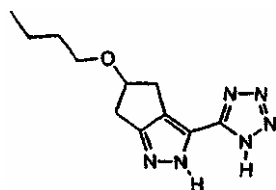


Вказану в заголовку сполуку отримують з 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопента[с]піразол-3-карбонітрилу (див. приклад 9.7) з використанням методики, подібно до описаної для синтезу сполуки прикладу 9.8.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,77(м, 1H), 3,33 (м, 2H), 3,23 (дд,  $J=6,9$ , 15,5Гц, 1H), 3,17 (дд,  $J=6,9$ , 16,0Гц, 1H), 2,85 (дд,  $J=4,1$ , 15,6Гц, 1H), 2,79 (дд,  $J=4,2$ , 15,9Гц, 1H), 1,85 (м, 1H), 0,94 (д,  $J=6,7$ Гц, 3H).

PX-MS: 2,42хв.; (M+H)=249.

Приклад 9.11: 5-Бутокси-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 16)

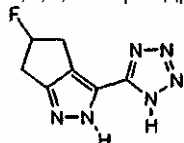


Вказану в заголовку сполуку отримують з 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопента[с]піразол-3-карбонітрилу (див. приклад 9.7) з використанням методики, подібно до описаної для синтезу сполуки прикладу 9.8.

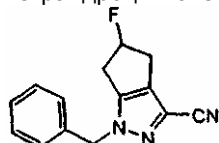
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,78 (м, 1H), 3,56 (м, 2H), 3,24 (дд,  $J=6,8$ , 15,6Гц, 1H), 3,17 (дд,  $J=6,9$ , 15,9Гц, 1H), 2,84 (дд,  $J=4,1$ , 15,6Гц, 1H), 2,77 (дд,  $J=4,6$ , 16,0Гц, 1H), 1,58 (м, 2H), 1,42 (м, 2H), 0,95 (т,  $J=7,3$ Гц, 3H).

РХ-МС: 2,50хв.; (M+H)=249.

Приклад 9.12: 5-Фтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 14)

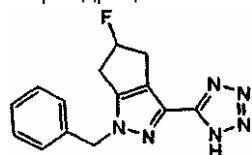


Стадія А: Отримання 1-бензил-5-фтор-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу



До розчину 1-бензил-5-гідрокси-1,4,5,6-тетрагідроциклопента[с]піразол-3-карбонітрилу (див. приклад 9.7, 30мг, 0,125ммоль) в безводному дихлорметані (0,9мл) додають DAST (33мкл, 0,25ммоль) в атмосфері азоту. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15 хвилин реакційну суміш розбавляють етилацетатом, промивають насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і насиченим розчином солі. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають ПТШХ ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 30% суміші етилацетат-гексан, отримуючи бажану сполуку (16мг).

Стадія В: Отримання 1-бензил-5-фтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу



Сполуку отримують з проміжної ціаносполуки зі стадії А, з використанням методики, подібно до описаної в прикладі 9.8, стадія В.

Стадія С: 5-Фтор-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 14)

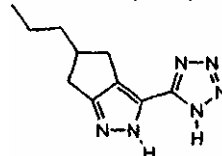
До розчину проміжної сполуки зі стадії В (13мг, 0,04ммоль) в MeOH (1мл) додають мурашину кислоту (0,1мл) і потім паладієву чернь (10мг). Після перемішування реакційної суміші в атмосфері азоту протягом 96 годин її фільтрують і концентрують

у вакуумі. Залишок очищають ВЕРХ із зверненою фазою (Gilson) з отриманням вказаної в заголовку сполуки (4,9мг).

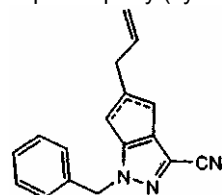
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  5,8 (д,  $J=51,9$ Гц, 1H), 3,31-3,17 (м, 2H), 3,14-2,92 (м, 2H).

РХ-МС: 0,99хв.; (M+H)=195,17.

Приклад 9.13: 5-Пропіл-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразолу

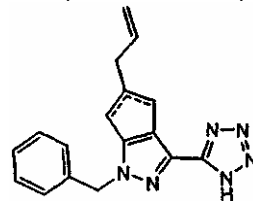


Стадія А: Отримання 5-аліл-1-бензил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 5-аліл-1-бензил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки трифторметансульфонового ефіру, описаного в прикладі 9.8 (114мг, 0,307ммоль), в безводному ТГФ (2мл) додають три-н-бутилалілолово (112мг, 0,338ммоль), хлорид літію (39мг, 0,923ммоль) і тетракистрифенілфосфінпаладій (0) (7,1мг, 0,006ммоль). Після нагрівання реакційної суміші при кипінні із зворотним холодильником протягом 6 годин її охолоджують до кімнатної температури і фільтрують. Залишок концентрують у вакуумі і очищають на хроматотроні з використанням 2000-мікронного ротора ( $\text{SiO}_2$ ) і 20% суміші етилацетат-гексан як елюенту, отримуючи бажаний продукт (33мг).

Стадія В: Отримання 5-аліл-1-бензил-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,6-дигідроциклопентапіразолу і 5-аліл-1-бензил-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,4-дигідроциклопентапіразолу (суміш)



Сполуку отримують з проміжної сполуки, отриманої на стадії А, вище, з використанням методики, подібно описаній в прикладі 9.8, стадія В.

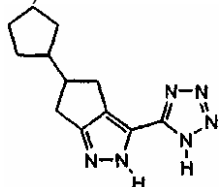
Стадія С: 5-Пропіл-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол

До розчину проміжної сполуки зі стадії В (18мг, 0,059ммоль) в метанолі додають декілька крапель концентрованої  $\text{HCl}$ , доти, поки реакційна суміш не стане гомогенною. Додають  $\text{Pd/C}$  (1,8мг) і отриману суміш перемішують в атмосфері водню (надувна камера) протягом 24 годин. Реакційну суміш фільтрують, концентрують у вакуумі і очищають ВЕРХ з оберненою фазою, з отриманням вказаної в заголовку сполуки.

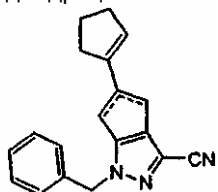
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  3,06 (m, 2H), 2,97 (дд,  $J=7,5$ , 15,1Гц, 1H), 2,5 (m, 2H), 1,6 (m, 2H), 1,4 (m, 2H), 0,98 (т,  $J=7,3$ Гц, 3H).

РХ-МС: 2,60хв.; (M+H)=219,36.

Приклад 9.14: 5-Циклопентил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 13)

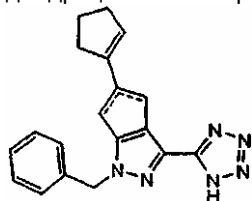


Стадія А: Отримання 1-бензил-5-циклопент-1-еніл-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 1-бензил-5-циклопент-1-еніл-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки складного трифторметансульфонового ефіру, описаного в прикладі 9.8 (185мг, 0,501ммоль), в 1,4-діоксані додають циклопентен-1-ілборонову кислоту (62мг, 0,551ммоль), фосфат калію (160мг, 0,751ммоль) і тетракистрифенілфосфінпаладій (0). Реакційну суміш нагрівають при 85°C. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляють етилацетатом, промивають 1н NaOH, насиченим розчином солі і сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчин фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають на хроматотроні з використанням 2000-мікронного ротора ( $\text{SiO}_2$ ) і 20% суміші етилацетат-гексан як елюенту.

Стадія В: Отримання 1-бензил-5-циклопент-1-еніл-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,6-дигідроциклопентапіразолу і 1-бензил-5-циклопент-1-еніл-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,4-дигідроциклопентапіразолу (суміш)



Сполуку отримують з проміжної сполуки, отриманої на стадії А, вище, з використанням методики, подібно описаній в прикладі 9.8, стадія В.

Стадія С. 5-Циклопентил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 13)

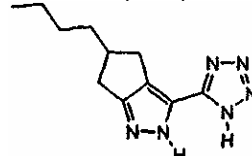
До розчину проміжної сполуки зі стадії В (16мг, 0,048ммоль) в метанолі (2мл) додають мурашину кислоту (200мкл). Додають паладієву чернь (8,2мг, 0,078ммоль), отриману суміш продувають азотом і перемішують протягом 24 годин. Додають іншу порцію паладієвої черні (8,2мг, 0,078ммоль). Після перемішування протягом 48 годин реакційну суміш фільтрують, концентрують у вакуумі і очищають

ВЕРХ із зверненою фазою, з отриманням вказаної в заголовку сполуки.

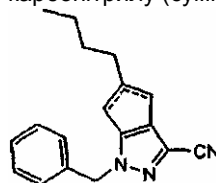
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  3,1-2,9 (m, 2H), 2,6 (m, 2H), 2,03 (m, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,28 (m, 2H).

РХ-МС: 2,99хв.; (M+H)=245,46.

Приклад 9.15: 5-Бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 8).

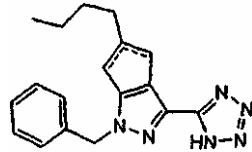


Стадія А: Отримання 1-бензил-5-бутил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 1-бензил-5-бутил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки трифторметансульфонового ефіру, описаного в прикладі 9.8 (180мг, 0,486ммоль), в толуолі (3мл) додають н-бутилборонову кислоту (99мг, 0,973ммоль),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (201мг, 1,46ммоль),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$  (12мг, 0,0146ммоль) і  $\text{Ag}_2\text{O}$  (225мг, 0,973ммоль). Після нагрівання реакційної суміші при кипінні із зворотним холодильником протягом 6 годин її охолоджують до кімнатної температури і фільтрують. Залишок концентрують у вакуумі і очищають на хроматотроні з використанням 2000-мікронного ротора ( $\text{SiO}_2$ ) і градієнта від 5% етилацетату до 20% суміші етилацетат-гексан як елюенту, з отриманням бажаного продукту (52мг).

Стадія В: Отримання 1-бензил-5-бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,6-дигідроциклопентапіразолу і 1-бензил-5-бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-1,4-дигідроциклопентапіразолу (суміш)



Сполуку отримують з проміжної сполуки, отриманої на стадії А, вище, з використанням методики, подібно описаній в прикладі 9.8, стадія В.

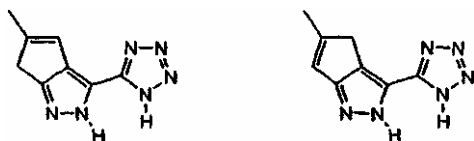
Стадія С. 5-Бутил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол (сполука 8)

Сполуку отримують з проміжної сполуки, отриманої на стадії В, вище, з використанням методики, подібно до описаної в прикладі 5, стадія С.

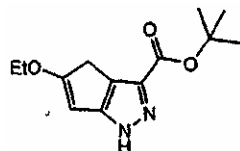
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  3,1 (m, 2H), 2,9 (m, 1H), 2,5 (m, 2H), 1,6 (m, 2H), 1,4 (m, 4H), 0,9 (т,  $J=7,0$ Гц, 3H).

РХ-МС: 2,86хв.; (M+H)=233,34.

Приклад 9.16: 5-Метил-3-(1H-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол (сполука 9) і 5-метил-(1H-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол (сполука 10)

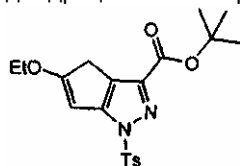


Стадія А: Отримання трет-бутилового ефіру 5-етокси-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



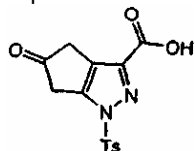
До етанольного (5мл) розчину кетоефіру (254мг, 1,0ммоль), отриманого з 3-етоксициклопентенону, як на стадії А прикладу 9.8, вище, додають гідрзингідрат (34мкл, 1,1ммоль) і потім оцтову кислоту (0,5мл). Після нагрівання реакційної суміші при кипінні із зворотним холодильником протягом 1,5год. її охолоджують до кімнатної температури і концентрують у вакуумі. Залишок суспендують у воді і екстрагують етилацетатом. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 25% суміші етилацетат-гексан, з отриманням бажаного продукту у вигляді білої твердої речовини.

Стадія В: Отримання трет-бутилового ефіру 5-етокси-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



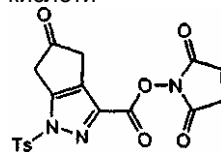
До розчину піразольної проміжної сполуки зі стадії А (275мг, 1,1ммоль), вище, в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5мл) додають піридин (178мкл, 2,2ммоль) і п-толуолсульфонілхлорид (230мг, 1,21ммоль). Після перемішування отриманої реакційної суміші при кімнатній температурі протягом 3 годин її розбавляють  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , промивають 1н  $\text{HCl}$ , насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 10% суміші етилацетат-гексан.

Стадія С: Отримання 5-оксо-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



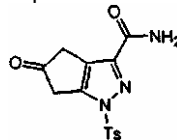
До розчину проміжної сполуки зі стадії В, вище, (414мг, 1,02ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2мл) додають трифтороцтову кислоту (2мл). Після перемішування реакційної суміші при кімнатній температурі протягом 1,5 години її концентрують у вакуумі і піддають азеотропній перегонці з толуолом (2×). Отриманий продукт використовують на наступній стадії без додаткового очищення.

Стадія D: Отримання 2,5-діоксопіролідін-1-ілового ефіру 5-оксо-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



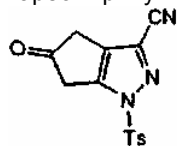
До розчину проміжної сполуки зі стадії С, вище, (320мг, 1,0ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20мл) додають N-гідроксисукцинімід (230мг, 2,0ммоль) і потім EDC (384мг, 2,0ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 18 годин реакційну суміш концентрують у вакуумі. Залишок розбавляють етилацетатом (20мл), промивають насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і насиченим розчином солі. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Отримують жовту тверду речовину.

Стадія Е: Отримання амиду 5-оксо-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонової кислоти



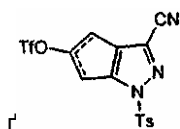
До розчину проміжної сполуки зі стадії D, вище, (380мг, 0,91ммоль) в 1,4-діоксані (10мл) додають  $\text{NH}_4\text{OH}$  (14,8н, 10,0екв., 0,61мл). Відразу ж утворюється осад. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15 хвилин реакційну суміш фільтрують через лійку зі спеченим фільтром і осад промивають 1,4-діоксаном. Фільтрат концентрують у вакуумі, з отриманням жовтого масла.

Стадія F: Отримання 5-оксо-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4,5,6-тетрагідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу



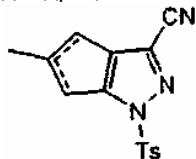
До розчину проміжної сполуки зі стадії Е, вище, (0,91ммоль) в безводному ДМФА (5мл) додають ціанурхлорид (334мг, 2,0ммоль) двома порціями. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15 хвилин реакцію гасять, виливаючи у воду (10мл). Отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищають флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 25% суміші етилацетат-гексан. Отримують білу тверду речовину.

Стадія G: Отримання 3-ціано-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,6-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти і 3-ціано-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4-дигідроциклопентапіразол-5-ілового ефіру трифторметансульфонової кислоти (суміш)



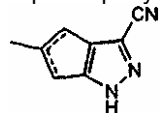
До розчину проміжної сполуки зі стадії F (100мг, 0,33ммоль) в безводному ТГФ (5мл) при  $-78^{\circ}\text{C}$  додають розчин літійдіізопропіламід (0,33ммоль, 166мкл, 2,0М в ТГФ) в ТГФ (6мл). Після перемішування реакційної суміші при  $-78^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвилин додають 2-[N,N-біс(трифторметилсульфоніл)амін]-5-хлорпіридин (195мг, 0,496ммоль). Реакційну суміш нагрівають до  $0^{\circ}\text{C}$  і перемішують протягом 45 хвилин. Реакційну суміш гасять 1н розчином  $\text{HCl}$  і отриману суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчин фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищують флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 5% суміші етилацетат-гексан як елюенту, з отриманням 79мг бажаного продукту у вигляді суміші регіоізомерів з подвійним зв'язком 4:1.

Стадія Н: Отримання 5-метил-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 5-метил-1-(толуол-4-сульфоніл)-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки зі стадії G, вище, (79мг, 0,182ммоль) в толуолі (1,5мл) додають хлорид літію (39мг, 0,912ммоль), тетраметилолово (126мкл, 0,912ммоль) і тетракістрифенілфосфінпаладій (0). Після нагрівання реакційної суміші при кипінні із зворотним холодильником протягом 45 хвилин її охолоджують до кімнатної температури, розбавляють етилацетатом, промивають водою. Органічний шар сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищують флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 30% суміші етил ацетат-гексан, отримуючи (28мг) бажаного продукту.

Стадія І: Отримання 5-метил-1,6-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу і 5-Метил-1,4-дигідроциклопентапіразол-3-карбонітрилу (суміш)



До розчину проміжної сполуки зі стадії Н, вище, (28мг, 0,093ммоль) в безводному ТГФ (3мл) додають тетрабутиламонійфторид (93мкл,

0,093ммоль, 1,0М в ТГФ). Після нагрівання реакційної суміші при кипінні із зворотним холодильником протягом 30 хвилин її охолоджують до кімнатної температури і концентрують у вакуумі. Залишок розчиняють в етилацетаті, промивають насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі. Залишок очищують флеш-хроматографією ( $\text{SiO}_2$ ) з використанням 30% суміші етилацетат-гексан, отримуючи білу тверду речовину.

Стадія J: 5-Метил-3-(1Н-тетразол-5-іл)-2,6-дигідроциклопентапіразол (сполука 9) і 5-метил-3-(1Н-тетразол-5-іл)-2,4-дигідроциклопентапіразол (сполука 10)

До розчину проміжної сполуки зі стадії І, вище, (9,0мг, 0,062ммоль) в 2-пропанолі (1мл) додають воду (0,5мл), азид натрію (12мг, 0,186ммоль) і бромід цинку (6,5мг, 0,031ммоль). Після нагрівання реакційної суміші при  $90^{\circ}\text{C}$  протягом 18 годин її охолоджують до кімнатної температури і додають  $\text{HCl}$  (1,5мл, 3н). Реакційну суміш екстрагують етилацетатом, промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують у вакуумі, з отриманням бажаного продукту з відношенням регіоізомерів з подвійним зв'язком 2:1.

Ізомер (а):

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  6,43 (ушир.с, 1Н), 3,3 (с, 2Н), 2,2 (с, 3Н).

Ізомер (b):

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500МГц)  $\delta$  6,58 (ушир.с, 1Н), 3,24 (с, 2Н), 2,15 (с, 3Н).

РХ-МС: 1,86хв., (M+H)=189,1

У даному описі цитуються різні публікації, патенти і опубліковані заявки на патент. Описи цих публікацій, патентів і опублікованих заявок на патент, наведені в даному описі, тим самим, включаються за допомогою посилань в даний опис у всій їх повноті. Модифікації і доповнення описаного винаходу, які знаходяться в полі зору фахівця в даній галузі, охоплюються наведеним вище описом і формулою винаходу, яка слідує нижче.

Хоч фахівцям в даній галузі доступні різноманітні вектори експресії, для цілей використання як ендогенних, так і неендогенних GPCR людини, найбільш переважним є, щоб вектор, що використовується являв собою pCMV. Цей вектор депонований в American Type Culture Collection (ATCC) 13 жовтня, 1998 року [10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209 USA] згідно з умовами Будапештського договору. ДНК досліджувалася ATCC і визначена як життєздатна. ATCC привласнила наступний депозитний номер pCMV: ATCC #203351.