

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491187 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.03

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/4162 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.11.10

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ 4Н-ИМИДАЗО[1,5-Ь]ПИРАЗОЛА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

(31) 21207613.7

(72) Изобретатель:
Молетт Жером (FR)

(32) 2021.11.10

(33) EP

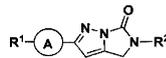
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(86) PCT/EP2022/081555

(87) WO 2023/084000 2023.05.19

(71) Заявитель:
АЦ ИММУНЕ СА (CH)

(57) Изобретение относится к новым соединениям формулы (I) или их детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, которые можно использовать для визуализации агрегатов альфа-синуклеина и определения их количества. Кроме того, соединения можно использовать для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви (такого как болезнь Паркинсона), определения предрасположенности к такому заболеванию, расстройству или аномалии, прогнозирования такого заболевания, расстройства или аномалии, мониторинга развития заболевания у пациента, страдающего от такого заболевания, расстройства или аномалии, мониторинга прогрессирования такого заболевания, расстройства или аномалии и прогнозирования реакции пациента, страдающего от такого заболевания, расстройства или аномалии, на соответствующее лечение.



A1

202491187

202491187

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581047EA/022

ПРОИЗВОДНЫЕ 4Н-ИМИДАЗО[1,5-В]ПИРАЗОЛА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к новым соединениям формулы (I) или их детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, которые можно использовать для визуализации агрегатов альфа-синуклеина и определения их количества. Кроме того, соединения можно использовать для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина (α -синуклеин, A-синуклеин, aСинуклеин, A-syn, α -syn, aSyn, a-syn), включая, но не ограничиваясь ими, тельца Леви и/или нейриты Леви (такого как болезнь Паркинсона), определения предрасположенности к такому заболеванию, расстройству или аномалии, прогнозирования такого заболевания, нарушения или аномалии, мониторинга развития заболевания у пациента, страдающего от такого заболевания, расстройства или аномалии, мониторинга прогрессирования такого заболевания, расстройства или аномалии и прогнозирования реакции пациента, страдающего от такого заболевания, расстройства или аномалии, на соответствующее лечение. Настоящее изобретение также относится к способам получения соединений и их предшественников, диагностическим композициям, включающим соединения, способам применения соединений, наборам, включающим соединения, и их применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Многие возрастные заболевания основаны на внеклеточных или внутриклеточных отложениях амилоида или амилоидоподобных белков или связаны с ними, которые способствуют патогенезу, а также прогрессированию заболевания. Наиболее хорошо охарактеризованным амилоидным белком, образующим внеклеточные агрегаты, является бета-амилоид (Абета или A β).

Амилоидоподобные белки, которые образуют главным образом внутриклеточные агрегаты, включают, но не ограничиваются ими, тау-белок, альфа-синуклеин и хантингтин (НТТ). Заболевания, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, обычно относят к синуклеинопатиям (или альфа-синуклеинопатиям), и они включают, но не ограничиваются ими, болезнь Паркинсона (PD). Синуклеинопатии с преимущественно нейрональными агрегатами включают, но не ограничиваются ими, болезнь Паркинсона (спорадическую, семейную с мутациями SNCA (гена, кодирующего белок альфа-синуклеина) или дупликацией или трипликацией гена SNCA, семейную с мутациями в других генах, кроме SNCA, чистую вегетативную недостаточность и дисфагию в тельцах Леви), носитель дупликации SNCA, болезнь телец Леви (LBD), деменцию с тельцами Леви (LBD) («чистую» деменцию с тельцами Леви), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), болезнь диффузных телец Леви (DLBD), болезнь Альцгеймера, спорадическую болезнь Альцгеймера, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями APP, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейную

британскую деменцию, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви и естественное старение при синдроме Дауна. Синуклеинопатии с нейрональными и глиальными агрегатами альфа-синуклеина включают, но не ограничиваются ими, множественную системную атрофию (MSA) (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральную дегенерацию и оливопонтocerebellарную атрофию). Другие заболевания, которые могут иметь альфа-синуклеин-иммунореактивные поражения, представляют собой, но не ограничиваются ими, черепно-мозговую травму, хроническую травматическую энцефалопатию, деменцию боксеров, тауопатии (болезнь Пика, лобно-височную деменцию, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальную дегенерацию и болезнь Ниманна-Пика тип С1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанные с хромосомой 17), болезнь двигательных нейронов, болезнь Гентингтона, боковой амиотрофический склероз (спорадический, семейный и ALS-деменции комплекс Гуама), нейроаксональную дистрофию, нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионные заболевания, болезнь Крейтцфельда-Якоба, атаксию-телеангиэктазию, синдром Мейжа, подострый склерозирующий панэнцефалит, болезнь Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, болезнь Гоше, болезнь Краббе, а также другие лизосомные болезни накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушение поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM) (Jellinger, *Mov. Disord.* 2003, 18 Suppl. 6, S2-12; Galvin et al. *JAMA Neurology* 2001, 58 (2), 186-190; Kovari et al., *Acta Neuropathol.* 2007, 114(3), 295-8; Saito et al., *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2004, 63(4), 323-328; McKee et al., *Brain*, 2013, 136(Pt 1), 43-64; Puschmann et al., *Parkinsonism Relat. Disord.* 2012, 18S1, S24-S27; Usenovic et al., *J. Neurosci.* 2012, 32(12), 4240-4246; Winder-Rhodes et al., *Mov. Disord.* 2012, 27(2), 312-315; Ferman et al., *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 2002, 8(7), 907-914; Smith et al., *J. Pathol.* 2014; 232:509-521, Lippa et al., *Ann Neurol.* 1999 Mar; 45(3):353-7; Schmitz et al., *Mol. Neurobiol.* 2018 Aug 22; Charles et al., *Neurosci. Lett.* 2000 Jul 28; 289(1):29-32; Wilhelmsen et al., *Arch Neurol.* 2004 Mar; 61(3):398-406; Yamaguchi et al., *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2004, 80th annual meeting, vol. 63; Askanas et al., *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2000 Jul; 59(7):592-8).

Альфа-синуклеин представляет собой нативно развернутый белок, состоящий из 140 аминокислот (Iwai et al., *Biochemistry* 1995, 34(32), 10139-10145). Последовательность альфа-синуклеина может быть поделена на три основных домена: 1) N-концевая область, содержащая остатки 1-60, которая содержит 11-мерные амфипатические несовершенные повторяющиеся остатки с высококонсервативным гексамером (KTKEGV). Эта область вовлечена в регулирование связывания альфа-синуклеина с мембранами и его интернализацию; 2) домен со спиральными остатками 61-95 с гидрофобными не бета-амилоидными компонентами (NAC); который необходим для фибриллизации альфа-синуклеина; и 3) спиральные остатки C-концевой области 96-140, которые являются высококислотными и насыщены пролином, и не имеет отчетливой структурной предрасположенности. Было показано, что альфа-синуклеин проходит несколько пост-трансляционных модификаций, включая укорочение, фосфорилирование,

убиквитинирование, окисление и/или ковалентное сшивание трансглутаминазы (Fujiwara et al., Nat. Cell. Biol. 2002, 4(2); 160-164; Hasegawa et al., J. Biol. Chem. 2002, 277(50), 49071-49076; Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 2005, 102(6), 2162-2167; Oueslati et al., Prog. Brain Res. 2010, 183, 115-145; Schmid et al., J. Biol. Chem. 2009, 284(19), 13128-13142). Интересно, что большинство этих модификаций затрагивают остатки в С-концевой области.

Несколько сайтов фосфорилирования были обнаружены в карбоксил-концевой области Tyr-125, -133, и -136, и на Ser-129 (Negro et al., FASEB J. 2002, 16(2), 210-212). Остатки Tyr-125 могут быть фосфорилированы двумя протеин-тирозин-киназами семейства Src, c-Src и Fyn (Ellis et al., J. Biol. Chem. 2001, 276(6), 3879-3884; Nakamura et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001, 280(4), 1085-1092). Фосфорилирование киназами семейства Src не подавляет и не усиливает тенденцию к полимеризации альфа-синуклеина. Оказалось, что альфа-синуклеин является прекрасным субстратом для протеин-тирозин-киназы p72^{syk} (Syk) *in vitro*; как только он подвергается интенсивному Tyr-фосфорилированию Syk или тирозинкиназами с аналогичной специфичностью, он теряет способность образовывать олигомеры, что позволяет предположить гипотетическую анти-нейродегенеративную роль этих тирозинкиназ (Negro et al., FASEB J. 2002, 16(2), 210-212). Альфа-синуклеин может быть Ser-фосфорилирован протеинкиназами SKI и SKII (Okochi et al., J. Biol. Chem. 2000, 275(1), 390-397). Остаток Ser-129 также фосфорилирован протеинкиназами G-белок-сопряженного рецептора (Pronin et al., J. Biol. Chem. 2000, 275(34), 26515-26522). Значительное и селективное фосфорилирование альфа-синуклеина на Ser-129 очевидно в очагах синуклеинопатии, включая тельца Леви (Fujiwara et al., Nat. Cell. Biol. 2002, 4(2); 160-164). Другие пост-трансляционные модификации в карбоксильном окончании, включая гликозилирование на Ser-129 (McLean et al., Neurosci. Lett. 2002, 323(3), 219-223) и нитрование на Tyr-125, -133, и -136 (Takahashi et al., Brain Res. 2002, 938(1-2), 73-80), могут влиять на агрегацию альфа-синуклеина. Сообщалось, что укорочение карбоксил-концевой области протеолизом играет роль в фибриллогенезе альфа-синуклеина при различных нейродегенеративных заболеваниях (Rochet et al., Biochemistry 2000, 39(35), 10619-10626). Полноразмерные, а также частично укороченные и нерастворимые агрегаты альфа-синуклеина обнаружены в высокоочищенных тельцах Леви (Crowther et al., FEBS Lett. 1998, 436(3), 309-312).

Аномальная агрегация белков, по-видимому, является общей характеристикой при старении мозга и в некоторых нейродегенеративных заболеваниях (Trojanowski et al., 1998, Cell Death Differ. 1998, 5(10), 832-837, Koo et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 1999, 96(18), 9989-9990, Hu et al., Chin. Sci. Bull. 2001, 46, 1-3); хотя четкая роль в механизме заболевания остается не определена. В моделях *in vitro* альфа-синуклеин (или некоторые его укороченные формы) легко собирается в филаменты, подобные тем, которые выделяют из мозга пациентов с деменцией с тельцами Леви (LB) и семейной PD (Crowther et al., FEBS Lett. 1998, 436(3), 309-312). Альфа-синуклеин и его мутированные формы (A53T и A30P) имеют неупряченную конформацию и не образуют значительные

вторичные структуры в водном растворе при низких концентрациях; однако при более высоких концентрациях они склонны к самоагрегации, образуя амилоидные фибриллы (Wood et al., J. Biol. Chem. 1999, 274(28), 19509-19512). Некоторые различия в PD-связанных мутантов и белка дикого типа были задокументированы. Мономерные агрегаты альфа-синуклеина *in vitro* образуют стабильные фибриллы через метастабильное олигомерное (т.е. протофибрильное) состояние (Volles et al., Biochemistry 2002, 41(14), 4595-4602).

Болезнь Паркинсона (PD) является наиболее распространенным нейродегенеративным двигательным расстройством. PD в основном является идиопатическим заболеванием, хотя по меньшей мере у 5% пациентов с PD патология связана с мутациями в одном или нескольких специфических генах. В гене альфа-синуклеина описано несколько точечных мутаций (A30P, E46K, H50Q, G51D, A53T), которые вызывают семейную PD с аутосомно-доминантным наследованием. Кроме того, у пациентов с болезнью Паркинсона были описаны дупликации и трипликации гена альфа-синуклеина, что подчеркивает роль альфа-синуклеина в патогенезе PD (Lesage et al., Hum. Mol. Genet., 2009, 18, R48-59). Патогенез PD остается неясным. Однако все больше данных указывают на роль патогенного сворачивания белка альфа-синуклеина, которое приводит к образованию амилоидоподобных фибрилл. Действительно, отличительными признаками PD являются наличие внутриклеточных агрегированных структур альфа-синуклеина, называемых тельцами Леви, и нейритов преимущественно в нейронах черного вещества, а также гибель дофаминергических нейронов в черном веществе и в других местах. Альфа-синуклеин представляет собой нативно развернутый пресинаптический белок, который может неправильно сворачиваться и агрегироваться в более крупные олигомерные и фибриллярные формы, что связано с патогенезом PD. Недавние исследования показали, что небольшие растворимые олигомерные и протофибрилярные формы альфа-синуклеина являются наиболее нейротоксичными видами (Lashuel et al., J. Mol. Biol., 2002, 322, 1089-102). Однако точная роль альфа-синуклеина в токсичности нейронной клетки еще не выяснена (обзор: Cookson, Annu. Rev. Biochem., 2005, 74, 29-52).

Помимо болезни Паркинсона, накопление агрегированного альфа-синуклеина в тельцах Леви характерно для всех заболеваний с тельцами Леви, включая болезнь Паркинсона с деменцией (PDD), и деменцию с тельцами Леви (DLB) (Carouch et al., Neurol. Ther. 2018, 7, 249-263). При DLB тельца Леви диффузно распределены по коре головного мозга, и в дополнение к тельцам Леви и нейритам было обнаружено, что больше нитей и точкообразных структур (точки Леви) иммунопозитивных к альфа-синуклеину, фосфорилированному по Ser-129 (Outeiro et al., Mol. Neurodegener. 2019, 14, 5). Агрегаты альфа-синуклеина также обнаружены при множественной системной атрофии (MSA). MSA представляет собой редкое и спорадическое нейродегенеративное заболевание, которое проявляется быстро прогрессирующей вегетативной и двигательной дисфункцией, а также переменным снижением когнитивных функций. К таким

расстройствам относятся синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральную дегенерацию и оливопонтocerebellарную атрофию. Заболевание может быть клинически подразделено на паркинсонический (MSA-P) или мозжечковый (MSA-C) вариант, в зависимости от преобладающего двигательного фенотипа (Fanciulli et al., N. Engl. J. Med. 2015; 372, 249-63). Он характеризуется агрегацией альфа-синуклеина в цитоплазме олигодендроцитов с образованием глиальных цитоплазматических включений (GCI). GCI, состоящие в основном из фибриллярных форм альфа-синуклеина, являются нейропатологическим признаком MSA и обнаруживаются в неокортексе, гиппокампе, стволе головного мозга, спинном мозге и ганглиях дорсальных корешков (Galvin et al., Arch Neurol. 2001, 58,186-90). GCI считаются центральным игроком в патогенезе MSA. Сообщалось о корреляции между нагрузкой GCI и степенью потери нейронов как в стриатонигральной, так и в оливопонтocerebellарной областях (Stefanova et al., Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2016, 42, 20-32). Кроме того, причинно-следственная связь между GCI и индукцией гибели нейронов была показана у трансгенных мышей со сверхэкспрессией альфа-синуклеина человека в олигодендроцитах под действием различных олигодендроглия-специфичных промоторов. Ключевым событием в патофизиологическом каскаде считается перmissive шаблонирование («прионоподобное» распространение) неправильно свернутого альфа-синуклеина.

Диагностика болезни Паркинсона в основном является клинической и зависит от наличия специфического набора симптомов и признаков (исходным основным признаком являются брадикинезия, ригидность, тремор в состоянии покоя и постуральная неустойчивость), отсутствия атипичных признаков, медленно прогрессирующего течения и ответа на симптоматическую лекарственную терапию, в основном ограничивающуюся заместительной терапией дофамином. Точный диагноз требует сложных клинических навыков и допускает определенную долю субъективности и ошибок, поскольку некоторые другие дегенеративные и недегенеративные заболевания могут имитировать симптомы PD (множественную системную атрофию (MSA), прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), болезнь Альцгеймера (AD), эссенциальное дрожание, дистоническое дрожание), (Guideline No. 113: Diagnosis and pharmacological management of Parkinson's disease, January 2010. SIGN). Окончательное подтверждение патологии может быть сделано только при посмертном нейропатологическом анализе.

Компьютерная томография (КТ) и обычная магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга людей с болезнью Паркинсона (БП) обычно выглядит нормально. Тем не менее эти методы полезны для исключения других заболеваний, которые могут быть вторичными причинами паркинсонизма, таких как опухоли базальных ганглиев, сосудистая патология и гидроцефалия. Сообщалось, что особый метод МРТ, диффузионная МРТ, может быть полезен для различения типичного и атипичного паркинсонизма, хотя его точная диагностическая ценность еще не изучена. Дофаминергическую функцию базальных ганглиев можно измерить с помощью различных радиоактивных меток ПЭТ и ОФЭКТ. Примеры представляют собой иофлупан

(¹²³I) (торговое название DaTSCAN) и иометопан (Dopascan) для ОФЭКТ или фтордезоксиглюкоза (¹⁸F) (¹⁸F-FDG) и дигидротетрабенезин (¹¹C) (¹¹C-DTBZ) для ПЭТ. Модель снижения дофаминергической активности в базальных ганглиях может помочь в диагностике PD, особенно на симптоматической стадии (Brooks, J. Nucl. Med., 2010, 51, 596-609; Redmond, Neuroscientist, 2002, 8, 457-88; Wood, Nat. Rev. Neurol., 2014, 10, 305).

Разрабатываются стратегии применения последних достижений в понимании потенциальных причин болезни Паркинсона для разработки биохимических биомаркеров (Scharira Curr. Opin. Neurol. 2013; 26(4):395-400). Такие биомаркеры, которые были исследованы в различных жидкостях организма (спинномозговая жидкость (СМЖ), плазма, слюна), включают уровни альфа-синуклеина, а также DJ-1, тау и Абета, а также белки нейрофиламентов, интерлейкины, остеопонтин и гипокронтин (Scharira Curr. Opin. Neurol. 2013; 26(4):395-400), но пока ни один из этих биомаркеров отдельно или в комбинации не может быть использован в качестве определяющего диагностического теста. По данным авторов изобретения, ни одного одобренного диагностического агента альфа-синуклеина в настоящее время не присутствует на рынке или не доступно для клинических исследований, несмотря на острую потребность в исследованиях болезни Паркинсона и разработки лекарственных средств (Eberling et al., J Parkinsons Dis. 2013; 3(4):565-7).

Способность получать изображения отложений альфа-синуклеина в головном мозге станет огромным прорывом в исследовании альфа-синуклеопатий, включая исследования, диагностику болезни Паркинсона и разработку лекарственного средства. Накопление агрегированного альфа-синуклеина в мозге считается ключевым патологическим признаком болезни Паркинсона (PD) и может начаться за много лет до появления симптомов. Таким образом, альфа-синуклеин является приоритетной мишенью для разработки лекарственного средства, учитывая не только его вероятный вклад в нейродегенерацию, но и возможность лечения заболевания на бессимптомной или продромальной стадиях. Получение изображения *in vivo* патологии альфа-синуклеина может быть полезным в качестве биомаркера для (i) выявления наличия заболевания потенциально на ранних стадиях, (ii) для оценки прогрессирования заболевания и (iii) для использования в качестве фармакодинамического инструмента для разработки лекарственного средства. Разработка агента для получения ПЭТ изображения альфа-синуклеина в настоящее время считается ключевой для точной диагностики синуклеинопатий, а также для поддержки клинической разработки терапевтических средств, нацеленных на альфа-синуклеин, начиная с оптимального выбора исследуемой популяции (Eberling, Dave and Frasier, J. Parkinson's Disease, 3, 565-567 (2013)). Несмотря на огромные усилия по идентификации альфа-синуклеин ПЭТ лиганда, до сих пор были идентифицированы только соединения, которые связываются с достаточно высоким сродством к искусственными фибриллами альфа-синуклеина, но ни одно из них не было подтверждено в клинических испытаниях на людях. Они не являются оптимальными по ряду причин: низкое сродство или отсутствие связывания наблюдалось с патологическими

агрегатами альфа-синуклеина, присутствующими в больном мозге, сообщалось о низкой или отсутствующей селективности альфа-синуклеина по сравнению с другими агрегированными белками и неподходящие физико-химические свойства для их использовать в качестве агентов ПЭТ, проникающих в мозг (Eberling et al., J Parkinsons Dis. 2013; 3(4):565-7; Neal et al., Mol. Imaging Biol. 2013, 15:585-595; Bagchi et al., PLoS One 2013, 8(2):e55031; Yu et al., Bioorganic and Medicinal chemistry 2012, 20:4625-4634; Zhang et al., Appl Sci (Basel) 2014, 4(1):66-78; Chu et al., J. Med. Chem., 2015, 58 (15):6002-17).

WO 2011/128455 относится к определенным соединениям, которые подходят для лечения расстройств, связанных с амилоидными белками или амилоидоподобными белками. US 2012/0302755 относится к некоторым визуализирующим агентам для выявления неврологической дисфункции. Другие соединения для диагностики нейродегенеративных расстройств на обонятельном эпителии описаны в WO 2012/037928.

WO 2010/063701 относится к определенному визуализирующему агенту *in vivo* для использования в способе определения присутствия, или подверженности, болезни Паркинсона, где визуализирующий агент *in vivo* включает альфа-синуклеиновый связующий агент, меченный *in vivo* визуализирующей группой, и где визуализирующий агент *in vivo* связывается с альфа-синуклеином с аффинностью связывания.

US 2014/0142089 относится к способу профилактики или лечения дегенеративного заболевания головного мозга, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции, включающей конкретное соединение, фармацевтически приемлемую соль, изомер, сольват, гидрат и их комбинацию.

WO 2009/155017 описаны арил- или гетероарилзамещенные производные азабензоксазола, которые, как утверждается, могут быть полезны в качестве индикаторов при позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для изучения амилоидных отложений в головном мозге *in vivo* для диагностики болезни Альцгеймера.

WO 2016/033445 относится к конкретному соединению для визуализации белка хантингтина.

WO 2017/153601 и WO 2019/234243 относятся к бициклическим соединениям для диагностики агрегатов альфа-синуклеина.

Таким образом, существует потребность в новом классе визуализирующих соединений, которые с высоким сродством связываются с альфа-синуклеином.

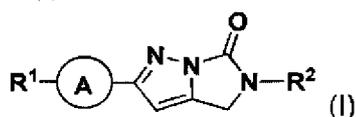
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение предлагает соединения, которые можно использовать для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви (такого как болезнь Паркинсона), прогнозирования такого заболевания, расстройства или аномалии, и мониторинга прогрессирования такого заболевания, расстройства или аномалии. В частности, соединения должны быть пригодны для определения

предрасположенности к такому заболеванию, расстройству или аномалии, мониторинга прогрессирования заболевания, расстройства или аномалии или прогнозирования реакции пациента, страдающего таким заболеванием, расстройством или аномалией, на лечение определенным лекарством. Кроме того, соединения должны быть пригодны для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, и/или обнаружения и, необязательно, количественного определения агрегатов альфа-синуклеина.

Различные варианты осуществления изобретения описаны в настоящем документе.

В рамках определенного аспекта в настоящем документе предложено соединение формулы (I):



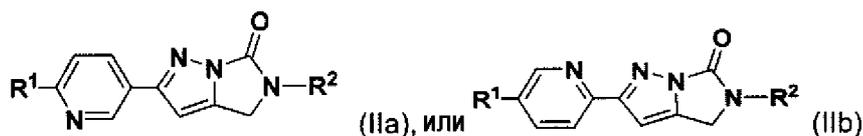
или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген, галогенC₁-C₄алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

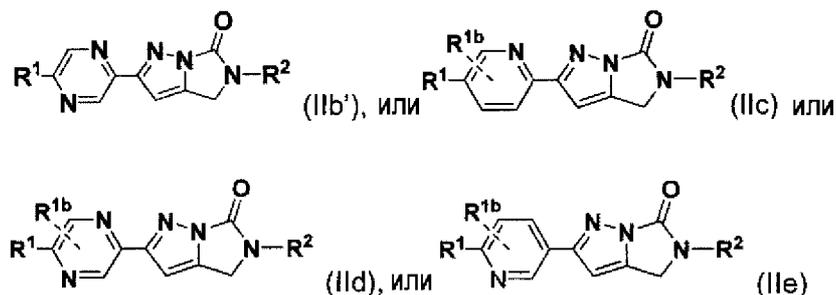
R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила.

В другом аспекте изобретение также относится к соединению, имеющему следующие подформулы



или его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату.

В другом аспекте изобретение также относится к соединению, имеющему следующие подформулы



или его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает диагностическую композицию, включающую соединение формулы (I) и необязательно по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, разбавитель и/или адьювант.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы (I) или диагностическую композицию, как определено в настоящем документе, которую можно использовать для визуализации агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. В другом аспекте соединение формулы (I) или диагностическая композиция могут быть использованы для визуализации с помощью позитронно-эмиссионной томографии агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. В другом аспекте соединение формулы (I) или диагностическая композиция, как определено в настоящем документе, может быть использована для визуализации *in vitro*, визуализации *ex vivo* или визуализации *in vivo*, предпочтительно использование предназначено для визуализации *in vivo*, более предпочтительно используется для визуализации головного мозга. В еще одном аспекте соединение формулы (I) или диагностическую композицию, как определено в настоящем документе, можно использовать в диагностике.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у субъекта, включающему стадии:

(a) введение соединения формулы (I) или диагностической композиции, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;
и

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу визуализации с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающему стадии:

(a) введение соединения формулы (I) или диагностической композиции, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;
и

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, путем сбора

изображения позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) ткани субъекта.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу детекции и, необязательно, количественному определению агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающему стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением формулы (I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, количественное определение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Настоящее изобретение также относится к способу сбора данных для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением формулы (I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

Настоящее изобретение также относится к способу сбора данных для определения предрасположенности к заболеванию, расстройству или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или участка тела,

предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением формулы (I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

В другом аспекте настоящее изобретение также относится к способу сбора данных для прогнозирования заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением формулы (I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a) - (c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу сбора данных для мониторинга прогрессирования заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у пациента, включающему стадии:

(a) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакте с соединением формулы

(I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a)-(c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу сбора данных для прогнозирования реакции пациента, страдающего от заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, на лекарственное средство, включающему стадии:

(a) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением формулы (I) или диагностической композицией, которая включает соединение формулы (I), как определено в настоящем документе;

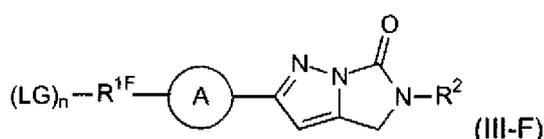
(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

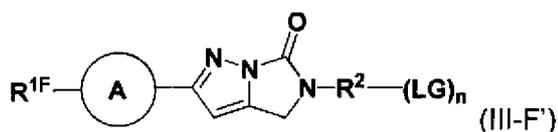
(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a)-(c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

В другом аспекте изобретение также относится к соединению формулы (III-F) или (III-F')





или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила

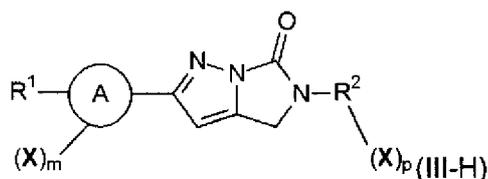
R^{1F} представляет собой 4-6-членный гетероциклил или C₁-C₄алкокси и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

LG представляет собой уходящую группу; и

n имеет значение по меньшей мере 1.

В другом аспекте изобретение также относится к соединению формулы (III-H)



или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероциклил, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном или галогенC₁-C₄алкокси;

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

m имеет значение 0, 1, или 2;

p имеет значение 0, 1, или 2; и

X представляет собой бром, хлор или йод;

при условии, что соединение формулы (III-H) включает по меньшей мере один X.

В другом аспекте изобретение кроме того относится к способу получения соединения формулы (I-F) путем взаимодействия соединения формулы (III-F) с ¹⁸F-фторирующим агентом, так что уходящая группа (LG) замещается ¹⁸F.

В другом аспекте изобретение также относится к способу получения соединения

формулы (I-H) путем взаимодействия соединения формулы (III-H) с агентом для радиоактивного мечения ^3H , так что X замещается ^3H .

В другом аспекте изобретение также относится к применению соединения согласно соединению формулы (I) в качестве аналитического эталона *in vitro* или инструмента для скрининга *in vitro*.

В другом аспекте изобретение также относится к тест-набору для детекции и/или диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, где тест-набор включает по меньшей мере одно соединение формулы (I), как определено в настоящем документе.

Изобретение также относится к набору для получения радиофармацевтического препарата, где набор включает запечатанный флакон, содержащий по меньшей мере одно соединение формулы (III-F) или (III-H).

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Для целей интерпретации настоящего описания будут применяться следующие определения, если не указано иное, и, когда это уместно, термины, используемые в единственном числе, также будут включать множественное число и наоборот. Следует также отметить, что используемые в настоящем документе и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное. Так, например, ссылка на «соединение» включает ссылку на одно или несколько соединений; и так далее.

Термин « C_1 - C_4 алкил» относится к насыщенной прямой или разветвленной углеводородной цепи, состоящей только из атомов углерода и водорода, не содержащей ненасыщенности, имеющей от одного до четырех атомов углерода и которая присоединена к остальной части молекулы одинарной связью. Примеры подходящих алкильных групп, имеющих от 1 до 4 атомов углерода, включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, пропил, изопропил, 1-метилэтил, н-бутил, трет-бутил и изобутил.

Термин « C_1 - C_4 алкокси» относится к радикалу формулы $-\text{OR}_a$, где R_a представляет собой C_1 - C_4 алкильный радикал, как главным образом определено выше. Примеры C_1 - C_4 алкокси включают, но не ограничиваются ими, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси и изобутокси.

Термин «галоген C_1 - C_4 алкил» или «гало C_1 - C_4 алкил» относится к C_1 - C_4 алкильному радикалу, как определено выше, замещенному одним или несколькими галогенрадикалами, как определено ниже. Примеры «галоген C_1 - C_4 алкила» включают, но не ограничиваются ими, трифторметил, дифторметил, фторметил, трихлорметил, 2,2,2-трифторэтил, 1,3-дибромпропан-2-ил, 3-бром-2-фторпропил и 1,4,4-трифторбутан-2-ил.

Термин «галоген C_1 - C_4 алкокси» относится к C_1 - C_4 алкокси-радикалу, как определено выше, замещенному одним или несколькими галогенрадикалами, как определено ниже. Примеры галоген C_1 - C_4 алкокси» включают, но не ограничиваются ими, трифторметокси, дифторметокси, фторметокси, 2,2,2-трифторэтокси, 3,3,3-трифторпропокси, 4,4,4-трифторбутокси, 2,2-дифторбутокси и 4-бромбутокси.

Термин «гетероциклил» относится к стабильному 4-6-членному неароматическому моноциклическому кольцевому радикалу, который содержит 1 или 2 гетероатома, которые выбраны, например, из N, O или S. Гетероцикليلная группа может быть ненасыщенной или насыщенной. Гетероцикليلный радикал может быть связан через атом углерода или гетероатом. Примеры включают, но не ограничиваются ими, азетидинил, оксетанил, пирролидинил, пирролидил, тетрагидрофурил, тетрагидротиенил, пиперидил, пиперазинил, тетрагидропиранил или морфолинил, предпочтительно азетидинил, пирролидинил или пиперидил.

Термин «гетероарил» относится к 5- или 6-членному ароматическому моноциклическому кольцу, которое содержит 1, 2 или 3 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S. Гетероарилный радикал может быть связан через атом углерода или гетероатом, выбранный из N, O и S. Примеры гетероарила включают, но не ограничиваются ими, тиопиранил, диоксанил, пиранил, пиразинил, пиридазинил, пиримидил или пиридил.

Термин «Hal», или «галоген», или «гало» относится к F, Cl, Br и I. Что касается диагностических и фармацевтических применений, F (например, ^{19}F и ^{18}F) является особенно предпочтительным.

Термин «уходящая группа» (LG), используемый в настоящем документе, представляет собой любую уходящую группу и означает атом или группу атомов, которые могут быть замещены другим атомом или группой атомов. Примеры даны, например, в *Synthesis* (1982), p. 85-125, таблица 2, *Carey and Sundberg, Organische Synthese*, (1995), page 279-281, таблица 5.8; или *Netscher, Recent Res. Dev. Org. Chem.*, 2003, 7, 71-83, схемы 1, 2, 10 и 15 и другие). (Coenen, *Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions*, (2006), in: *Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging*. Springer, Berlin Heidelberg, pp.15-50, explicitly: scheme 4 pp. 25, scheme 5 pp 28, table 4 pp 30, Figure 7 pp 33). Предпочтительно, «уходящая группа» (LG) выбрана из галогена, C₁-C₄алкилсульфоната и C₆-C₁₀арилсульфоната, где C₆-C₁₀арилсульфонат может быть необязательно замещен -CH₃ или -NO₂.

Если не указано иное, термин «соединение по изобретению» относится к соединению формулы (I) или его подформулам (например, (IIa), (IIb), (I-F), (I-H*), (I-H)), или к его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру (включая диастереомерные смеси и индивидуальный диастереомер, энантиомерную смесь и одиночный энантиомер, смесь конформеров и одиночный конформер), рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату. Следует понимать, что каждая ссылка на соединение формулы (I) также охватывает его подформулы (например, (IIa), (IIb), (I-F), (I-H*), (I-H)). Соединения формул (III-F) и (III-H) будут называться предшественниками соединений по настоящему изобретению.

Соединения по настоящему изобретению и их предшественники, имеющие один или несколько оптически активных атомов углерода, могут существовать в виде рацематов и рацемических смесей, стереоизомеров (включая диастереомерные смеси и

индивидуальные диастереомеры, энантиомерные смеси и отдельные энантиомеры, смеси конформеров и одиночные конформеры), таутомеров, атропоизомеров, и ротамеров. Все изомерные формы включены в настоящее изобретение.

«Фармацевтически приемлемые соли» определены как производные соединений по настоящему изобретению, где исходное соединение модифицировано путем получения его кислотных или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот с основными остатками, такими как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли включают обычные нетоксичные соли или соли четвертичного аммония исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Например, такие обычные нетоксичные соли включают соли, полученные из неорганических кислот, таких как, но не ограничиваясь ими, хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная и тому подобное; и соли, полученные из органических кислот, таких как, но не ограничиваясь ими, уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, винная, лимонная, аскорбиновая, памовая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глутаминовая, бензойная, салициловая, сульфаниловая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этандисульфоновая, щавелевая, изетионовая и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению и их предшественники могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими способами. Обычно такие соли можно получить путем взаимодействия форм свободной кислоты или основания этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде, органическом растворителе или смеси обоих. Органические растворители включают, но не ограничиваются ими, неводные среды, такие как эфиры, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Списки подходящих солей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, p. 1445, описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

«Фармацевтически приемлемые» определены как такие соединения, материалы, композиции и/или лекарственные формы, которые, в пределах здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерных с разумным соотношением польза/риск.

«Сольваты» могут быть образованы из соединения по настоящему изобретению и любого подходящего фармацевтически приемлемого растворителя. Примеры включают C₁₋₄ спирты (такие как метанол или этанол).

Пациентами или субъектами настоящего изобретения обычно являются животные, особенно млекопитающие, в частности, человек.

Агрегаты альфа-синуклеина представляют собой мультимерные бета-складчатые обогащенные мономеров альфа-синуклеина, которые могут образовывать либо растворимые олигомеры, либо растворимые/нерастворимые протофибриллы, либо зрелые фибриллы, которые коалесцируют во внутриклеточные отложения, определенных как ряд патологий Леви при болезни Паркинсона и других синуклеинопатиях. Агрегаты альфа-синуклеина, которые составляют патологии Леви, могут быть определены как имеющие следующую морфологию: тельца Леви, нейриты Леви, незелые тельца Леви или бескровные тельца, перикариальные отложения с диффузным, зернистым, точечным или плеоморфным структурами. Кроме того, агрегаты альфа-синуклеина являются основным компонентом внутриклеточных фибриллярных включений, обнаруживаемых в олигодендроцитах (также называемых глиальными цитоплазматическими включениями) и в сомах, аксонах и ядрах нейронов (называемых нейронными цитоплазматическими включениями), которые являются гистологическими признаками множественной системной атрофии. Агрегаты альфа-синуклеина при патологиях Леви часто демонстрируют значительное увеличение пост-трансляционных модификаций, таких как фосфорилирование, убиквитинирование, нитрирование и укорочение.

Тельца Леви представляют собой аномальные агрегаты белка, которые развиваются внутри нервных клеток при болезни Паркинсона (PD), болезни телец Леви и других синуклеинопатиях. Тельца Леви выглядят как сферические массы, которые замещают другие компоненты клетки. Морфологически, тельца Леви могут быть классифицированы на стволотомозговой и кортикальный тип. Классические стволотомозговые тельца Леви представляют собой эозинофильные цитоплазматические включения, состоящие из плотного ядра, окруженного оболочкой расходящихся фибрилл шириной 5-10 нм, первичным структурным компонентом которых является альфа-синуклеин; кортикальные тельца Леви отличаются отсутствием оболочки. Наличие телец Леви является отличительным признаком болезни Паркинсона.

Нейриты Леви представляют собой аномальные отростки нейронов в больных нейронах, содержащие зернистый материал, аномальные альфа-синуклеиновые (α -syn) филаменты, подобные тем, которые обнаруживаются в тельцах Леви, точкообразные варикозные структуры и аксональные сфероиды. Как и тельца Леви, нейриты Леви являются признаком α -синуклеинопатий, таких как деменция с тельцами Леви, болезнь Паркинсона и множественная системная атрофия.

Термины «заболевание», «расстройство» или «аномалия» используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Соединения формулы (I) могут связываться с агрегатами альфа-синуклеина. Тип связи с соединениями формулы (I) не выяснен, и любой тип связи охватывается настоящим изобретением. Формулировки «соединение, связанное с агрегатами альфа-синуклеина» и подобные используются в настоящем документе взаимозаменяемо и не считаются ограниченными каким-либо конкретным типом связи.

Предпочтительные определения, приведенные в разделе «Определения»,

применимы ко всем вариантам осуществления, описанным ниже, если не указано иное. В настоящем документе описаны различные варианты осуществления изобретения, при этом следует понимать, что признаки, указанные в каждом варианте осуществления, могут быть объединены с другими указанными признаками для обеспечения дополнительных вариантов осуществления настоящего изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фиг. 1: Целевое воздействие [^3H]-Примера-1 на ткани при различных альфа-синуклеинопатиях. Накопление зерен серебра на тельцах Леви и нейритах Леви, как показано на нижних панелях. Иммунофлуоресцентное окрашивание антителом a-syn-pS129 проводили на тех же срезах, которые показаны на верхних панелях, для совместного мечения агрегатов альфа-синуклеина. PD, болезнь Паркинсона; PDD, болезнь Паркинсона с деменцией; MSA, множественная системная атрофия; DLB, деменция с тельцами Леви; LBV, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви. Масштабная линейка, 50 мкм.

Фиг. 2: Оценка аффинности связывания [^3H]-Примера-1 с тканью головного мозга человека в случае семейной PD (G51D миссенс-мутация) с помощью ауторадиографии. А) Ауторадиографические изображения, В) Иммунофлуоресцентное окрашивание антителом a-syn-pS129, С) Специфическое связывание [^3H]-примера-1 (количество в минуту на мм^2). Масштабная линейка, 2 мм. 'ТВ', общее связывание; 'NSB', самоблокировка, неспецифическое связывание.

Фиг. 3: Оценка специфичности связывания [^3H]-Примера-1 с различными альфа-синуклеинопатиями и контрольными случаями без деменции с помощью ауторадиографии. А) Ауторадиографические изображения; В) Иммунофлуоресцентное окрашивание антителом a-syn-pS129 для больных доноров. Масштабная линейка, 5 мм. SNCA, миссенс-мутация G51D гена альфа-синуклеина [SNCA]; PDD, болезнь Паркинсона с деменцией; LBV, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви; MSA, множественная системная атрофия; NDC, контроль без деменции. 'ТВ', общее связывание; 'NSB', неспецифическое связывание.

Фиг. 4: Насыщение связывания с [^3H]-примером 1 на агрегатах альфа-синуклеина, полученных из головного мозга при PD, с помощью микрорадиосвязывания. График отображает специфическое связывание, (количество в минуту на мм^2).

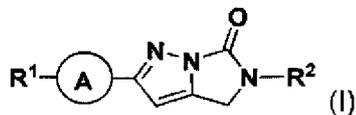
Фиг. 5: Оценка значения K_i соединения примера 1 для замены эталонного соединения Абета ([^3H]-Abeta-Ref) радиоактивно немеченым соединением примера 1 на гомогенатах, полученных из головного мозга при AD. Процентные значения конкуренции связывания [^3H]-Abeta-Ref представлены в зависимости от возрастающих концентраций радиоактивно немеченого соединения примера 1. Показаны средние значения двух независимых экспериментов (с двумя техническими повторами каждый).

Фиг. 6: Оценка целевого воздействия [^3H]-Примера-1 на ткань AD, содержащую патологические агрегаты Тау-белка. Нет накопления зерен серебра на сплетениях Тау с [^3H]-Пример-1 по сравнению с эталонным лигандом Тау ([^3H]-Tau-Ref).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соединения по настоящему изобретению и их предшественники описаны ниже. Следует понимать, что также предусматриваются все возможные комбинации следующих определений.

Изобретение относится к соединению формулы (I)



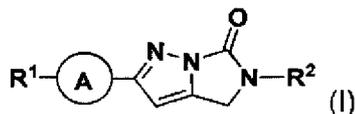
или его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

A представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген, галогенC₁-C₄алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I):



или его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

A представляет собой 6-членный гетероарил;

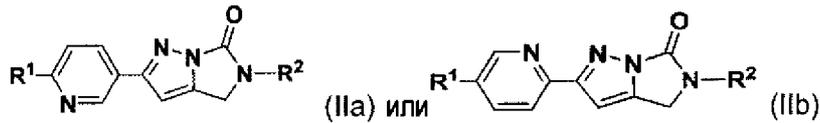
R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила.

A представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила. В одном варианте осуществления **A** представляет собой 6-членный гетероарил.

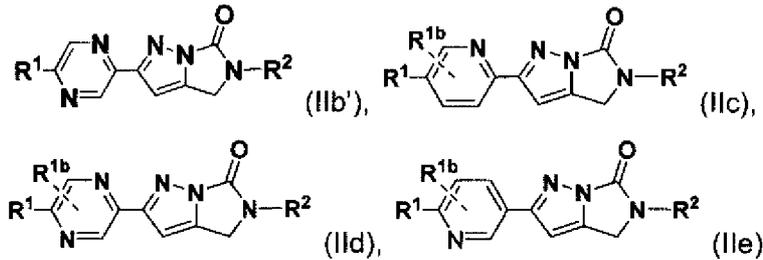
В другом варианте осуществления изобретение предоставляет соединение

формулы (I), имеющее формулу (IIa) или (IIb):



или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват.

В другом варианте осуществления изобретение предоставляет соединение формулы (I), имеющее формулу (IIb'), или (IIc), или (IId), или (IIe).

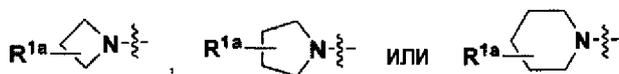


или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват, где R^{1b} представляет собой галоген или C_1 - C_4 алкил, предпочтительно галоген или CH_3 . В одном варианте осуществления R^{1b} представляет собой галоген, предпочтительно F. Предпочтительно F представляет собой ^{19}F или ^{18}F , еще более предпочтительно ^{18}F . В другом варианте осуществления R^{1b} представляет собой CH_3 .

В одном варианте осуществления, R^1 представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном. В одном варианте осуществления, R^1 представляет собой галоген. В другом варианте осуществления, R^1 представляет собой 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой галоген- C_1 - C_4 алкокси. В предпочтительном варианте осуществления R^1 представляет собой 4-6-членный гетероцикл, который замещен по меньшей мере одним галогеном. Предпочтительно, гетероцикл замещен по меньшей мере одним галогеном, более предпочтительно одним или двумя галогенами, еще более предпочтительно одним галогеном. В одном варианте осуществления галоген представляет собой F, и более предпочтительно F представляет собой ^{19}F или ^{18}F , еще более предпочтительно ^{18}F .

В одном варианте осуществления галоген в R^1 и R^{1b} представляют собой F. Предпочтительно F представляет собой ^{19}F или ^{18}F , более предпочтительно ^{18}F .

В одном варианте осуществления R^1 представляет собой 4-6-членный гетероцикл, выбранный из следующих:



где R^{1a} представляет собой Н или галоген, предпочтительно галоген.

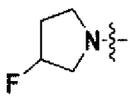
В предпочтительном варианте осуществления R^1 представляет собой 4-5-членный гетероцикл, выбранный из следующих:



где R^{1a} представляет собой Н или галоген, предпочтительно галоген.

В предпочтительном варианте осуществления галоген в R^1 и R^{1a} представляют собой F. Предпочтительно, F представляет собой ^{19}F или ^{18}F , более предпочтительно ^{18}F .

В еще одном варианте осуществления R^1 представляет собой 5-членный гетероцикл, который представляет собой:

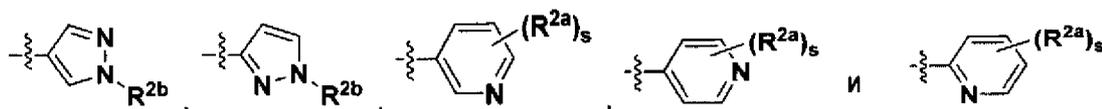


предпочтительно F представляет собой ^{19}F или ^{18}F , более предпочтительно ^{18}F .

В еще одном варианте осуществления R^1 представляет собой $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m$ -галоген, где m представляет собой целое число от 1 до 4, предпочтительно 1 или 2, более предпочтительно 2.

В одном варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила, предпочтительно галоген C_1 - C_4 алкила или C_1 - C_4 алкила.

В одном предпочтительном варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



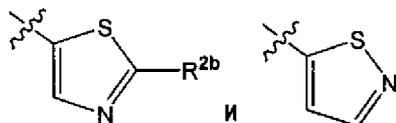
где

R^{2a} независимо выбран из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

R^{2b} выбран из Н, галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила; и

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 0 или 1).

В другом варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный гетероарил, выбранный из следующих

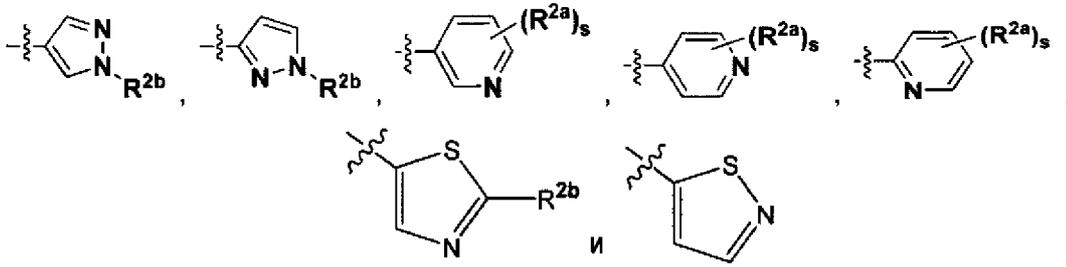


где

R^{2b} выбран из Н, галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 -

C₄алкила.

Предпочтительно, R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:

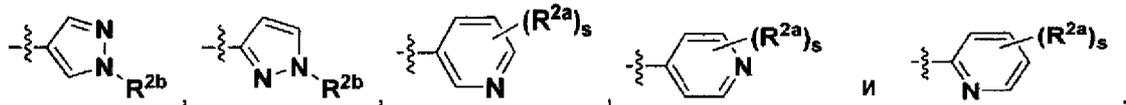


где

R^{2b} выбран из H, C₁-C₄алкила и галогенC₁-C₄алкила; и

s имеет значение 0.

В одном предпочтительном варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:

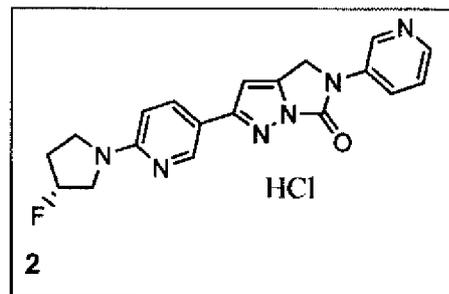
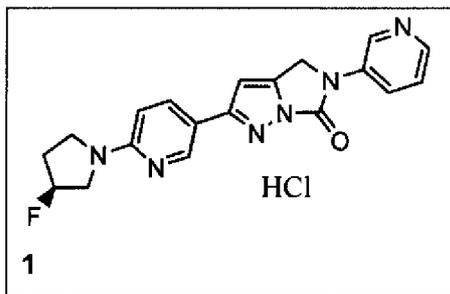


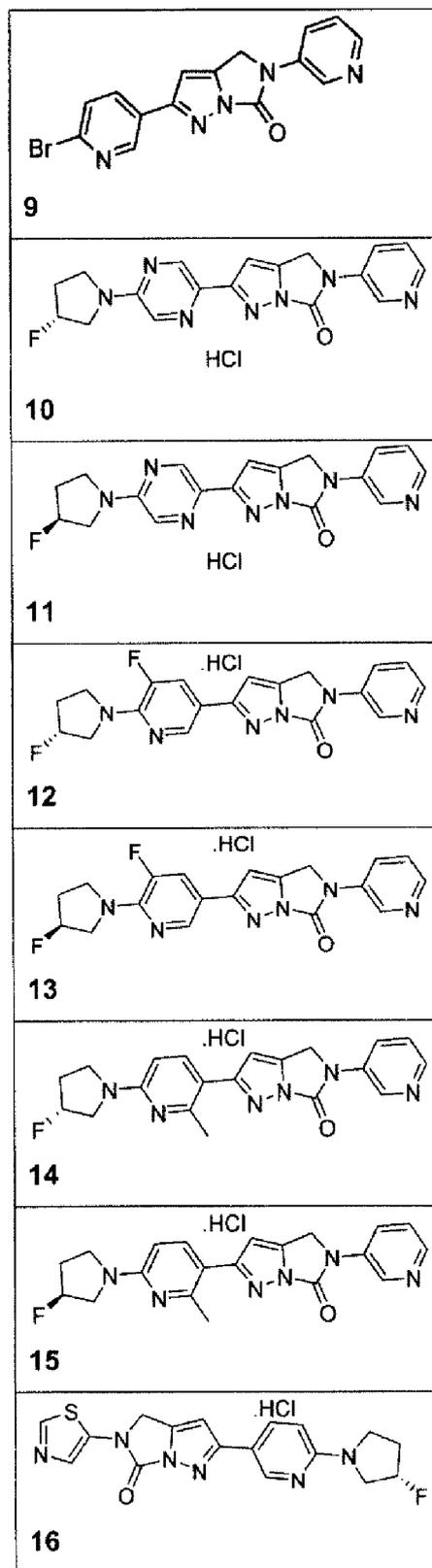
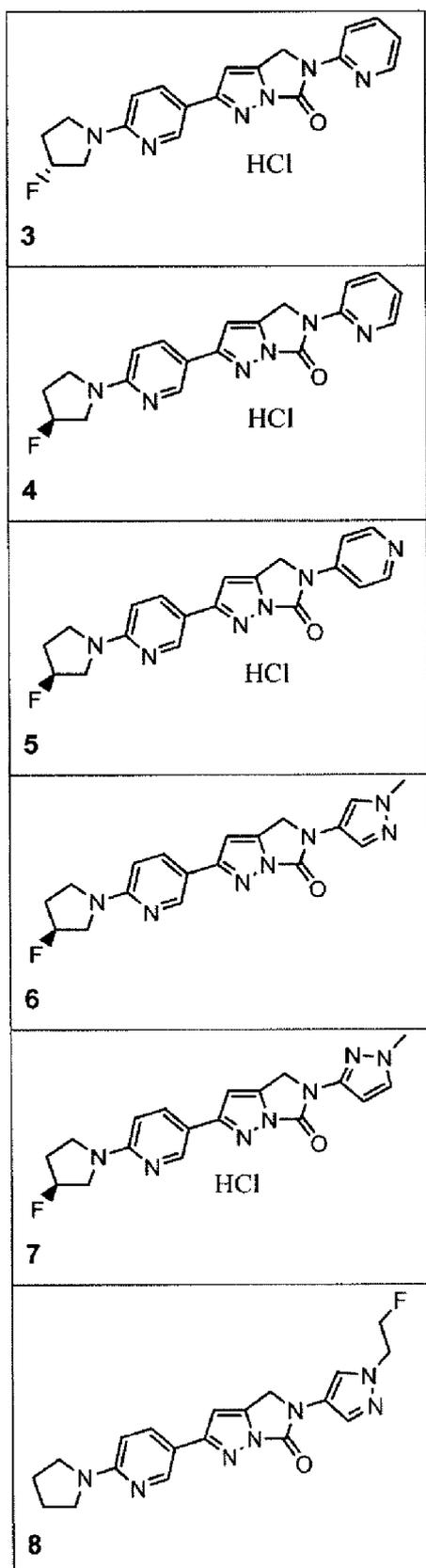
где

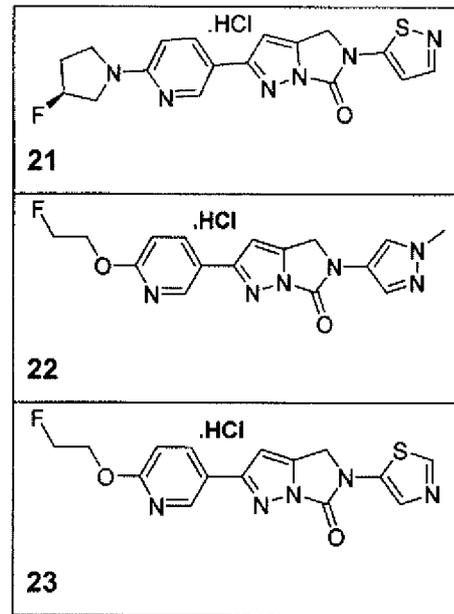
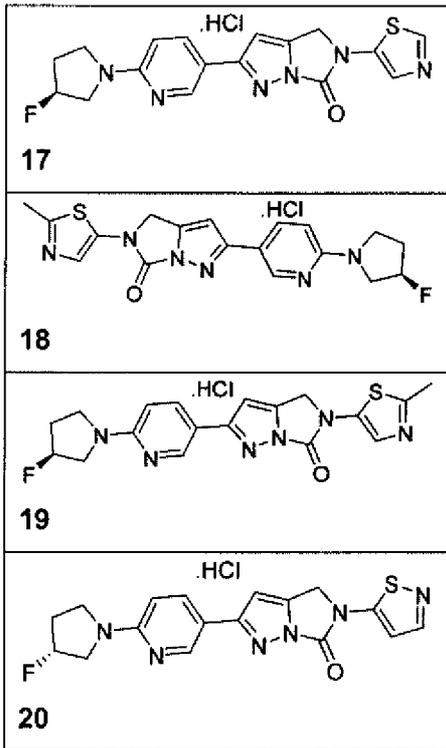
R^{2b} выбран из H, C₁-C₄алкила и галогенC₁-C₄алкила; и

s имеет значение 0.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение выбрано из



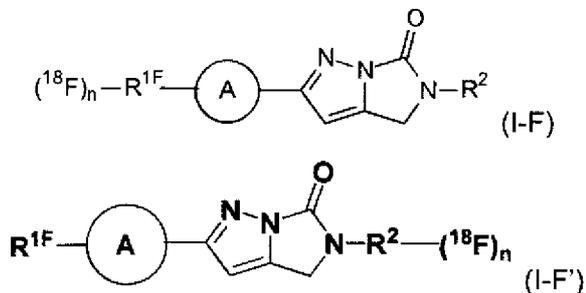




или его детектируемому меченому соединению, стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение формулы (I) представляет собой детектируемое меченое соединение. Детектируемая метка может представлять собой радиоизотоп. В одном варианте осуществления соединение формулы (I) включает по меньшей мере один радиоизотоп. Предпочтительно детектируемая метка представляет собой радиоизотоп, выбранный из ^{18}F , ^2H и ^3H . Наиболее предпочтительно радиоизотоп выбран из ^{18}F и ^3H .

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-F) или (I-F')



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват, где

Ⓐ представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C_1 - C_4 алкила;

R^{1F} представляет собой 4-6-членный гетероциклический, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; или

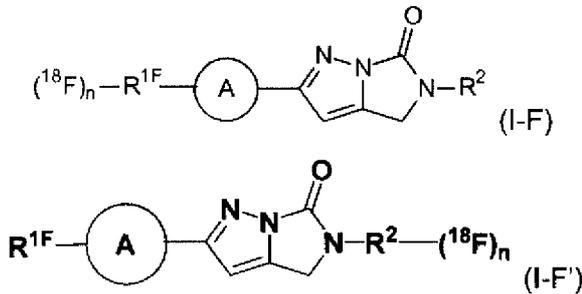
R^{1F} представляет собой C_1 - C_4 алкокси;

R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила; или

и

n имеет значение по меньшей мере 1, предпочтительно 1.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-F) или (I-F')



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват, где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил;

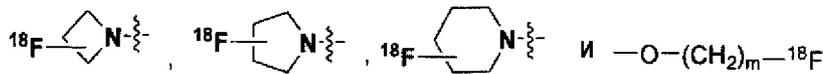
R^{1F} представляет собой 4-6-членный гетероциклический;

R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила; предпочтительно

R^2 представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный C_1 - C_4 алкилом и

n имеет значение по меньшей мере 1, предпочтительно 1.

В предпочтительном варианте осуществления $-R^{1F}-(^{18}F)_n$ выбран из следующих:

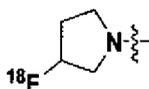


где m имеет значение по меньшей мере 1, предпочтительно 1 или 2, более предпочтительно 2.

Более предпочтительно $-R^{1F}-(^{18}F)_n$ выбран из следующих:

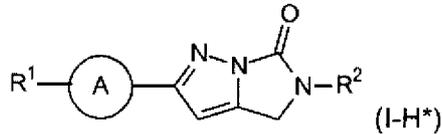


Еще более предпочтительно, $-R^{1F}-(^{18}F)_n$ представляет собой:



Детектируемое меченое соединение формулы (I-F) или (I-F') включает по меньшей мере один ^{18}F . Предпочтительно, детектируемое меченое соединение формулы (I-F) или (I-F') включает один или два ^{18}F . Еще более предпочтительно, один ^{18}F .

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-H*)



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват,

где

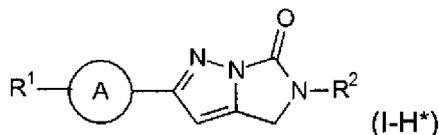
(A) представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C_1 - C_4 алкила;

R¹ представляет собой галоген, галоген C_1 - C_4 алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

при условии, что соединение формулы (I-H*) включает по меньшей мере один ^2H (дейтерий "D") или ^3H (третий "T"), предпочтительно T, предпочтительно 1, 2 или 3 D или T.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), где соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-H*)



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват,

где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил;

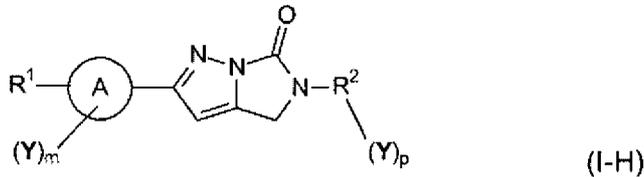
R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила,

галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

при условии, что соединение формулы (I-H*) включает по меньшей мере один ²H (дейтерий “D”) или ³H (третий “T”), предпочтительно T, предпочтительно 1, 2 или 3 D или T.

В предпочтительном варианте осуществления соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-H)



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват,

где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген, галогенC₁-C₄алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном;

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

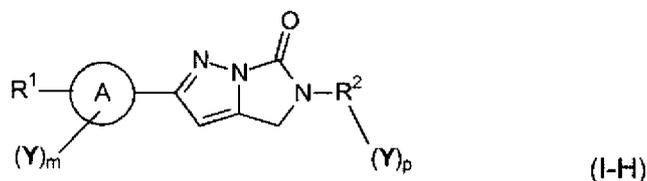
Y представляет собой T или CT₃;

m имеет значение 0, 1, 2 или 3;

p имеет значение 0, 1, 2 или 3;

при условии, что соединение формулы (I-H) включает по меньшей мере один T или CT₃, где T представляет собой ³H (третий).

В предпочтительном варианте осуществления соединение представляет собой детектируемое меченое соединение формулы (I-H)



или его стереоизомер, рацемическую смесь, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват,

где

(A) представляет собой 6-членный гетероарил;

R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который

необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном;

R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

Y представляет собой T или CT_3 ;

m имеет значение 0, 1, 2 или 3;

p имеет значение 0, 1, 2 или 3;

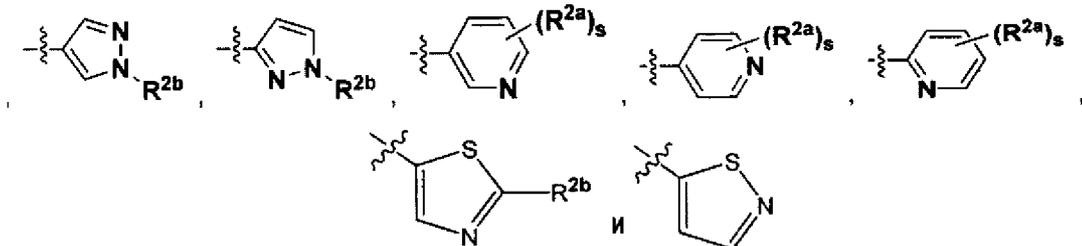
при условии, что соединение формулы (I-N) включает по меньшей мере один T или CT_3 , где T представляет собой 3H (третий).

Понятно, что третий может присутствовать в любом доступном положении, в котором присутствует водород. Например, в группе R^2 третий может присутствовать либо непосредственно связанным с 5-членным или 6-членным гетероарилом (например, в форме T), либо может присутствовать в галоген C_1 - C_4 алкиле, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкиле (например, в форме T) либо может присутствовать в галоген C_1 - C_4 алкиле, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкиле (например, в форме CT_3). В 4-6-членном гетероциклиле R^1 третий может быть, например, непосредственно связан с 4-6-членным гетероциклилом.

В одном варианте осуществления, \textcircled{A} представляет собой 6-членный гетероарил и m имеет значение 1, 2 или 3, например, 1.

В одном варианте осуществления, R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила, и p имеет значение 1, 2 или 3, например, 1.

В предпочтительном варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



где

R^{2a} независимо выбран из T , галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила (например, CT_3);

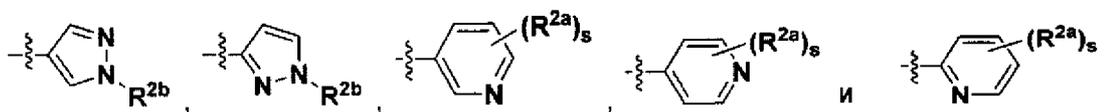
R^{2b} выбран из H , T , галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси, галогеналкила и C_1 - C_4 алкила;

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 0 или 1); и

где галоген C_1 - C_4 алкил, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкил или C_1 - C_4 алкокси необязательно включает один или несколько T .

В одном варианте осуществления, R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила, и p имеет значение 1, 2 или 3, например, 1.

В предпочтительном варианте осуществления R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



где

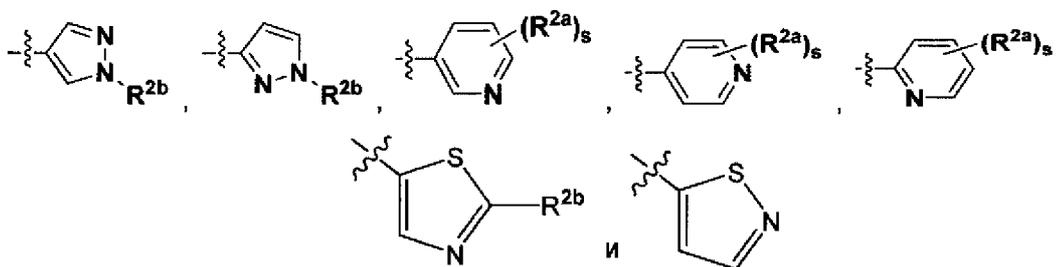
R^{2a} независимо выбран из T , галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила (например, CT_3);

R^{2b} выбран из H , T , галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси, haloалкил и C_1 - C_4 алкил (например, CT_3);

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 0 или 1); и

где галоген C_1 - C_4 алкил, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкил или C_1 - C_4 алкокси необязательно включает один или несколько T .

Предпочтительно, R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



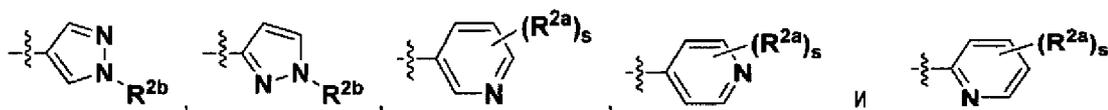
где

R^{2a} представляет собой T ;

R^{2b} выбран из H , T , галоген C_1 - C_4 алкила и C_1 - C_4 алкила, где галоген C_1 - C_4 алкил и C_1 - C_4 алкил необязательно включает один или несколько T (предпочтительно R^{2b} выбран из T или CT_3); и

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 1).

Предпочтительно, R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



где

R^{2a} представляет собой T или H ;

R^{2b} выбран из H , галоген C_1 - C_4 алкила и C_1 - C_4 алкила (например, CT_3), где

галогенC₁-C₄алкил и C₁-C₄алкил (предпочтительно R^{2b} выбран из CT₃); и s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 1).

Предпочтительно, R^{2a} представляет собой -T, -OCH₃, -CH₃, -CT₃ или -H; и R^{2b} выбран из -H, -T или -CT₃.

В предпочтительном варианте осуществления детектируемое меченое соединение формулы (I-H*) или (I-H) включает один, два или три T. Предпочтительно, детектируемое меченое соединение формулы (I-H*) или (I-H) включает один T. Более предпочтительно, детектируемое меченое соединение формулы (I-H*) или (I-H) включает два T. Еще более предпочтительно, детектируемое меченое соединение формулы (I-H*) или (I-H) включает три T, такие как -CT₃.

В другом варианте осуществления, изобретение обеспечивает детектируемое меченое соединение формулы (I-H*) или (I-H), где ³H тритий (“T”) может быть замещен ²H дейтерием (“D”). Дейтерированное соединение можно получить путем взаимодействия соединения формулы (III-H) с агентом для радиоактивного мечения ²H.

Соединения по настоящему изобретению и их предшественники могут быть детектируемо мечены. Тип метки конкретно не ограничен и будет зависеть от выбранного способа детекции. Примеры возможных меток включают изотопы, такие как радионуклиды, позитронные излучатели и гамма-излучатели, предпочтительно детектируемая метка представляет собой радиоизотоп. Что касается детектируемо меченых соединений по настоящему изобретению и их предшественников, которые включают радиоизотоп, позитронный излучатель или гамма-излучатель, следует понимать, что радиоизотоп, позитронный излучатель или гамма-излучатель должен присутствовать в количестве, которое не равно природному количеству соответствующего радиоизотопа, позитронного излучателя или гамма-излучателя. Кроме того, используемое количество должно позволять его детекцию выбранным способом детекции. Примеры подходящих изотопов, таких как радионуклиды, позитронные излучатели и гамма-излучатели, включают ²H, ³H, ¹⁸F, ¹¹C, ¹³N и ¹⁵O, предпочтительно ²H, ³H, ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O и ¹⁸F, более предпочтительно ²H, ³H и ¹⁸F, еще более предпочтительно ³H и ¹⁸F.

¹⁸F-меченные соединения особенно подходят для визуализации, такой как, ПЭТ. Соответствующие соединения, которые включают фтор, имеющие природный изотоп ¹⁹F, также представляют особый интерес, поскольку могут быть использованы в качестве аналитических стандартов и эталонов во время производства, контроля качества, выделения и клинического применения их ¹⁸F-аналогов.

Кроме того, замещение изотопами, такими как дейтерий, т.е. ²H, может давать определенные диагностические и терапевтические преимущества, возникающие в результате большей метаболической стабильности за счет снижения, например, дефторирования, повышенный период полувыведения *in vivo* или пониженную дозировку, сохраняя при этом или улучшая исходную эффективность соединения.

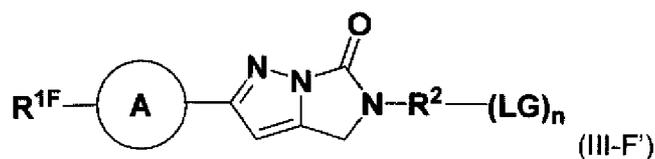
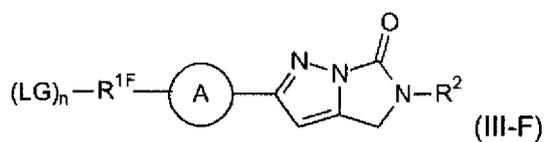
Изотопные варианты соединений по изобретению и их предшественников обычно можно получить с помощью обычных способов, таких как иллюстративные способы или с

помощью способов получения, описанных в примерах и препаративных примерах ниже, с использованием соответствующих изотопных вариантов подходящих реагентов, которые коммерчески доступны или получены известными методами синтеза.

Радионуклиды, позитронные излучатели и гамма-излучатели могут быть включены в соединения по настоящему изобретению и их предшественники способами, которые являются обычными в области органического синтеза. Обычно их вводят с использованием соответственно меченого исходного вещества при получении желаемого соединения по настоящему изобретению и его предшественника. Иллюстративные способы введения детектируемых меток описаны, например, в US 2012/0302755.

Положение, в котором детектируемая метка должна быть присоединена к соединениям по настоящему изобретению и их предшественникам, особо не ограничено. Радионуклиды, позитронные излучатели и гамма-излучатели, например, могут быть присоединены в любом положении, где также может быть присоединен соответствующий неизлучающий атом. Например, ^{18}F может быть присоединен в любом положении, которое подходит для присоединения F. То же самое относится и к другим радионуклидам, позитронным излучателям и гамма-излучателям. Благодаря простоте синтеза R^1 предпочтительно замещен ^{18}F . ^3H может быть присоединен в любом доступном положении, в котором присутствует H. Если ^2H используется в качестве детектируемой метки, ее можно присоединять в любом доступном положении, в котором присутствует H.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится также к соединению формулы (III-F) или (III-F'), которое является предшественником соединения формулы (I-F) и (I-F'), соответственно



или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

A представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C_1 - C_4 алкила;

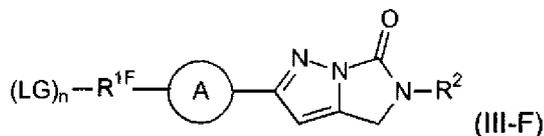
$\text{R}^{1\text{F}}$ представляет собой 4-6-членный гетероциклил или C_1 - C_4 алкил;

R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

LG представляет собой уходящую группу; и

n имеет значение по меньшей мере 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение также относится к соединению формулы (III-F), которое является предшественником соединения формулы (I-F)



или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

\textcircled{A} представляет собой 6-членный гетероарил;

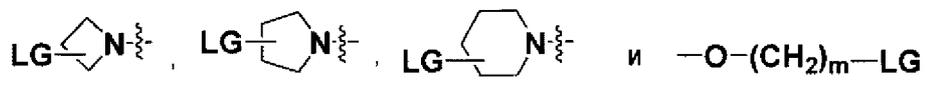
R^{1F} представляет собой 4-6-членный гетероциклил;

R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

LG представляет собой уходящую группу; и

n имеет значение по меньшей мере 1.

В другом предпочтительном варианте осуществления $(LG)_n-R^{1F}$ выбран из следующих:

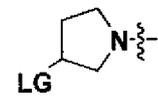


где m имеет значение по меньшей мере 1, предпочтительно 1 или 2, более предпочтительно 2.

Более предпочтительно $(LG)_n-R^{1F}$ выбран из следующих:



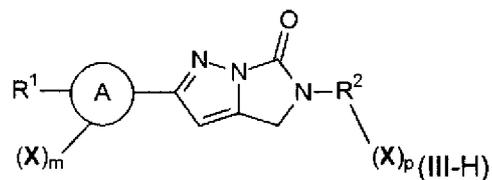
Еще более предпочтительно, $(LG)_n-R^{1F}$ представляет собой:



Предпочтительно, уходящая группа (LG) представляет собой галоген, C_1 - C_4 алкилсульфонат, C_1 - C_4 алкиламмоний или C_6 - C_{10} арилсульфонат, где C_6 - C_{10} арилсульфонат может быть необязательно замещен $-CH_3$ или $-NO_2$. Более предпочтительно, уходящая группа (LG) представляет собой бром, хлор, йод, C_6 - C_4 алкилсульфонат или C_6 - C_{10} арилсульфонат, где C_6 - C_{10} арилсульфонат может быть необязательно замещен $-CH_3$ или $-NO_2$. Еще более предпочтительно, уходящая группа (LG) представляет собой мезилат, тозилат или нозилат. Еще более предпочтительно, уходящая группа (LG) представляет собой мезилат или нозилат. Более предпочтительно уходящая группа (LG) представляет

собой мезилат.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (III-H), предшественнику соединения формулы (I-H):



или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

A представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила

R¹ представляет собой галоген, галогенC₁-C₄алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном;

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

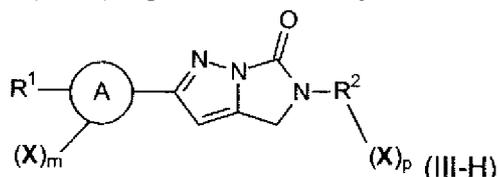
m имеет значение 0, 1, или 2;

p имеет значение 0, 1, или 2; и

X представляет собой бром, хлор или йод;

при условии, что соединение формулы (III-H) включает по меньшей мере один X (например, 1, 2 или 3 X, предпочтительно 1 или 2 X).

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (III-H), предшественнику соединения формулы (I-H):



или его стереоизомеру, рацемической смеси, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату, где

A представляет собой 6-членный гетероарил;

R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном;

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

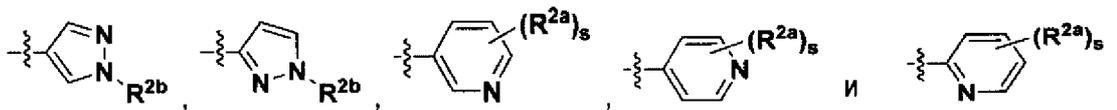
m имеет значение 0, 1, или 2;

p имеет значение 0, 1, или 2; и

X представляет собой бром, хлор или йод;

при условии, что соединение формулы (III-H) включает по меньшей мере один X (например, 1, 2 или 3 X, предпочтительно 1 или 2 X).

В предпочтительном варианте осуществления $(X)_p-R^2$ выбран из следующих:



где

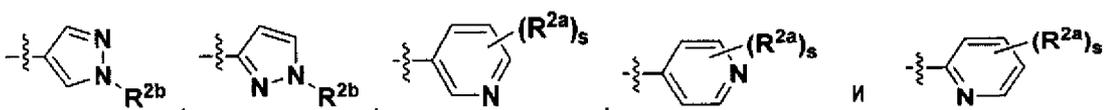
R^{2a} независимо выбран из X, галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

R^{2b} выбран из H, X, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 0 или 1); и

где галоген C_1 - C_4 алкил, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкил или C_1 - C_4 алкокси необязательно содержит один или несколько X.

Предпочтительно, $(X)_p-R^2$ выбран из следующих:



где

R^{2a} представляет собой X;

R^{2b} выбран из H, X, галоген C_1 - C_4 алкила и C_1 - C_4 алкила, предпочтительно X;

s имеет значение 0, 1 или 2 (предпочтительно 1); и

где C_1 - C_4 алкил или галоген C_1 - C_4 алкил необязательно содержит один или несколько X.

В предпочтительном варианте осуществления детектируемое меченое соединение формулы (III-H) содержит один, два или три X. В предпочтительном варианте осуществления детектируемое меченое соединение формулы (III-H) содержит один X. В другом предпочтительном варианте осуществления детектируемое меченое соединение формулы (III-H) содержит два X. В одном варианте осуществления, X выбран из брома, хлора и йода. В предпочтительном варианте осуществления X представляет собой бром.

СПОСОБЫ СИНТЕЗА ДЕТЕКТИРУЕМО МЧЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

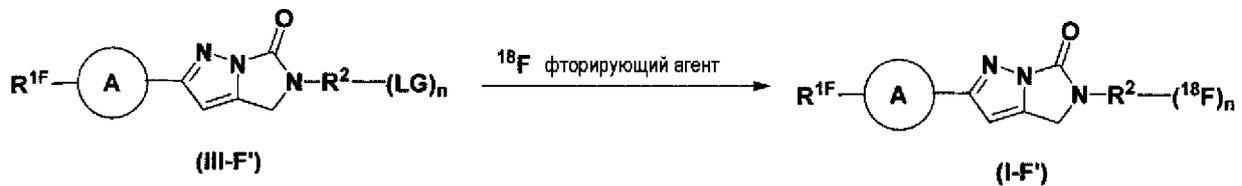
Настоящее изобретение относится также к способу получения соединения формулы (I) или ее подформулы (например, (IIa), (IIb), (I-F), (I-F'), (I-H*), (I-H)) и, в частности, соединения формулы (III-F), (III-F') или (III-H), включающего детектируемую метку.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I-F) путем осуществления взаимодействия соединения формулы (III-F) с ^{18}F -фторирующим агентом.



где \textcircled{A} , R^{1F} , R^2 , n и LG имеют значения, как определено в настоящем документе выше.

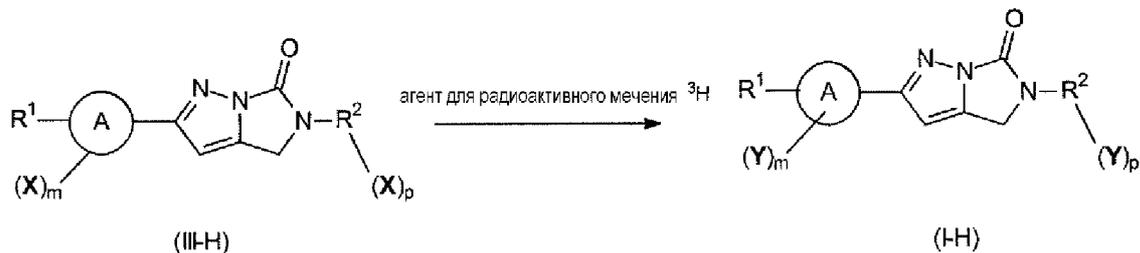
В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I-F') путем осуществления взаимодействия соединения формулы (III-F') с ^{18}F -фторирующим агентом.



где \textcircled{A} , R^{1F} , R^2 , n и LG имеют значения, как определено в настоящем документе выше.

Подходящие растворители для ^{18}F -фторирования включают DMF, DMSO, ацетонитрил, DMA или их смеси, предпочтительно ацетонитрил или DMSO. Подходящие агенты для ^{18}F -фторирования выбраны из $K^{18}F$, $Rb^{18}F$, $Cs^{18}F$, $Na^{18}F$, тетра(C_{1-6} алкил)аммониевой соли ^{18}F , Kryptofix[222] ^{18}F и тетрабутиламмония [^{18}F]фторида.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I-H) путем осуществления взаимодействия соединения формулы (III-H) с агентом для радиоактивного мечения 3H .



где \textcircled{A} , R^1 , R^2 , X , Y , m и p имеют значения, как определено в настоящем документе выше.

Агент для радиоактивного мечения 3H может представлять собой газообразный тритий. Способ можно осуществлять в присутствии катализатора, такого как палладий на угле (Pd/C), растворителя, такого как диметилформамид (DMF), и основания, такого как N, N-диизопропилэтиламин (DIEA).

Альтернативно, в другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I-H) путем радиоактивного мечения соединения формулы (III-H) агентом для радиоактивного мечения ST_3 , где Т представляет собой 3H . Агент для радиоактивного мечения ST_3 может представлять собой IST_3 (производное йодметана с 3H). Способ можно осуществлять в присутствии растворителя, такого как диметилформамид (DMF), и основания, такого как карбонат цезия или гидрид натрия.

РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Соединения по настоящему изобретению также можно использовать в наборах для получения радиофармацевтических препаратов. Вследствие радиоактивного распада радиофармацевтические препараты обычно получают непосредственно перед применением. Набор обычно включает предшественник соединения по настоящему изобретению и агент, который взаимодействует с предшественником с введением радиоактивной метки в соединение по настоящему изобретению. Предшественником соединения по настоящему изобретению может быть, например, соединение формулы (III-F) или (III-H). Агент может представлять собой агент, который вводит радиоактивную метку, такую как ^{18}F или 3H .

В одном варианте осуществления набор из частей представляет собой тест-набор для детекции и/или диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, где тест-набор включает по меньшей мере один предшественник соединения по настоящему изобретению (например, соединение, имеющее формула (III-F) или (III-H)).

В другом варианте осуществления набор из частей представляет собой набор для получения радиофармацевтического препарата, где набор включает запечатанный флакон, содержащий по меньшей мере один предшественник соединения по настоящему изобретению (например, соединение, имеющее формулу (III-F) или (III-H)).

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

Соединения по настоящему изобретению особенно подходят для визуализации агрегатов альфа-синуклеина, включая, но не ограничиваясь ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Что касается белка альфа-синуклеина, соединения особенно подходят для связывания с различными типами агрегатов альфа-синуклеина, включая, но не ограничиваясь ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Визуализацию можно проводить у млекопитающих, предпочтительно у человека. Визуализация предпочтительно представляет собой визуализацию *in vitro*, визуализацию *ex vivo* или визуализацию *in vivo*. Более предпочтительно визуализация представляет собой визуализацию *in vivo*: Еще более предпочтительно, визуализация предпочтительно представляет собой визуализацию головного мозга. Визуализация также может представлять собой визуализацию глаза/сетчатки. Соединения по настоящему изобретению особенно подходят для применения в диагностике.

Диагностику можно проводить для млекопитающих, предпочтительно для

человека. Ткань, представляющая интерес, на которой проводится диагностика, может представлять собой мозг, ткань центральной нервной системы, ткань глаза (например, ткань сетчатки), ткань периферических органов, таких как кишечник или другие ткани, или жидкости организма, такие как спинномозговая жидкость (СМЖ) или кровь. Ткань предпочтительно представляет собой ткань головного мозга.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает диагностическую композицию, включающую соединение по изобретению и необязательно по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, разбавитель и/или адъювант.

Благодаря своей конструкции и характеристикам связывания соединения по настоящему изобретению подходят для применения в диагностике заболеваний, расстройств и аномалий, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. В другом варианте осуществления диагностическая композиция, которая включает соединение по настоящему изобретению, также пригодна для применения в диагностике заболеваний, расстройств и аномалий, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

В еще одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению или диагностическая композиция, включающая соединение по изобретению, подходит для применения в визуализации, такой как визуализация *in vitro*, визуализация *ex vivo* или визуализация *in vivo*, предпочтительно применение для визуализации *in vivo*, более предпочтительно применение для визуализации головного мозга. В частности, применение у человека.

В другом варианте осуществления соединения по настоящему изобретению или диагностическая композиция особенно подходят для применения в позитронно-эмиссионной томографии агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Заболевания, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, обычно относят к синуклеинопатиям (или α -синуклеинопатиям). Соединения по настоящему изобретению подходят для применения в диагностике заболеваний, расстройств или аномалий, включающих, но не ограниченных ими, болезнь Паркинсона (спорадическую, семейную с мутациями альфа-синуклеина, семейную с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, чистую вегетативную недостаточность и дисфагию в тельцах Леви), носитель дупликации SNCA, деменцию с тельцами Леви («чистую» деменцию с тельцами Леви), болезнь Альцгеймера, спорадическую болезнь Альцгеймера, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями APP, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейную британскую деменцию, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви и естественное старение при синдроме Дауна). Синуклеинопатии с нейрональными и глиальными агрегатами альфа-синуклеина включают множественную системную атрофию (MSA) (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральную дегенерацию и

оливопонтocerebellарную атрофию). Другие заболевания, которые могут иметь альфа-синуклеин-иммунореактивные поражения, включают черепно-мозговую травму, хроническую травматическую энцефалопатию, тауопатии (болезнь Пика, лобно-височную деменцию, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальную дегенерацию и болезнь Ниманна-Пика тип С1), болезнь двигательных нейронов, боковой амиотрофический склероз (спорадический, семейный и ALS-деменции комплекс Гуама), нейроаксональную дистрофию, нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионные заболевания, атаксию-телеангиэктазию, синдром Мейжа, подострый склерозирующий панэнцефалит, болезнь Гоше, а также другие лизосомные болезни накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушение поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM) (Jellinger, *Mov Disord* 2003, 18 Suppl. 6, S2-12; Galvin et al. *JAMA Neurology* 2001, 58 (2), 186-190; Kovari et al., *Acta Neuropathol.* 2007, 114(3), 295-8; Saito et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 63(4), 323-328; McKee et al., *Brain*, 2013, 136(Pt 1), 43-64; Puschmann et al., *Parkinsonism Relat Disord* 2012, 18S1, S24-S27; Usenovic et al., *J Neurosci.* 2012, 32(12), 4240-4246; Winder-Rhodes et al., *Mov Disord.* 2012, 27(2), 312-315; Ferman et al., *J Int Neuropsychol Soc.* 2002, 8(7), 907-914). Предпочтительно соединения по настоящему изобретению подходят для применения в диагностике болезни Паркинсона, множественной системной атрофии, деменции с тельцами Леви, деменции при болезни Паркинсона, носителя дупликации SNCA или болезни Альцгеймера, более предпочтительно болезни Паркинсона (PD).

В способах диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви (например, болезнь Паркинсона), или предрасположенности к ним у субъекта, способ включает стадии:

(а) введение субъекту диагностически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или диагностической композиции, которая включает соединение по настоящему изобретению;

(b) обеспечение возможности соединения по настоящему изобретению распределяться в ткани, представляющей интерес (такой как ткань головного мозга, ткань центральной нервной системы (ЦНС), ткань глаза, ткань периферических органов или другие ткани) или жидкости организма (такой как спинномозговая жидкость (СМЖ) или кровь); и

(с) визуализация представляющей интерес ткани или жидкости организма.

Если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, увеличивается по сравнению с нормальным контрольным уровнем, субъект страдает от заболевания или имеет риск развития заболевания, расстройства или аномалия, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Соединения по настоящему изобретению можно использовать для визуализации агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в любом образце или конкретной части тела или области тела пациента, который предположительно содержит агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Соединения способны проникать через гематоэнцефалический барьер. Следовательно, они особенно подходят для визуализации агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в головном мозге, ткани центральной нервной системы (ЦНС), ткани глаза (например, ткани сетчатки), ткань периферических органов, таких как кишечник или другие ткани, или жидкости организма, такие как спинномозговая жидкость (СМЖ) или кровь.

При применении в диагностике соединения по настоящему изобретению предпочтительно вводят в форме диагностической композиции, включающей соединение по настоящему изобретению. «Диагностическая композиция» определена в настоящем изобретении как композиция, включающая одно или несколько соединений по настоящему изобретению в форме, подходящей для введения пациенту, например, млекопитающему, такому как человек, и которая подходит для применения в диагностике конкретного заболевания, расстройства или аномалии, в данном случае. Предпочтительно диагностическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, разбавитель или адъювант. Введение предпочтительно осуществляют, как определено ниже. Более предпочтительно инъекцией композиции в водном растворе. Такая композиция может необязательно содержать дополнительные ингредиенты, такие как буферы; фармацевтически приемлемые солюбилизаторы (например, циклодекстрины или поверхностно-активные вещества, такие как плуроник, Tween или фосфолипиды); и фармацевтически приемлемые стабилизаторы или антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, гентизиновая кислота или пара-аминобензойная кислота). Доза соединения по настоящему изобретению будет варьироваться в зависимости от конкретного вводимого соединения, массы пациента и других переменных, которые будут очевидны врачу-специалисту в данной области.

Хотя соединения по настоящему изобретению можно вводить отдельно, предпочтительно составлять из них диагностическую композицию в соответствии со стандартной фармацевтической практикой. Таким образом, изобретение также обеспечивает диагностическую композицию, которая включает диагностически эффективное количество соединения по настоящему изобретению в смеси, необязательно, по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым эксципиентом, носителем, разбавителем или адъювантом.

Фармацевтически приемлемые эксципиенты хорошо известны в области фармацевтики и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publishing Co., New Jersey (1975). Фармацевтический эксципиент может быть выбран в соответствии с предполагаемым путем введения и стандартной фармацевтической

практикой. Эксципиент должно быть приемлемым в том смысле, что он не должен вредить реципиенту.

Фармацевтически полезные эксципиенты, носители, адъюванты и разбавители, которые можно использовать в составе диагностической композиции по настоящему изобретению, могут включать, например, растворители, такие как одноатомные спирты, такие как этанол, изопропанол, и многоатомные спирты, такие как гликоли, и пищевые масла, такие как соевое масло, кокосовое масло, оливковое масло, сафлоровое масло, хлопковое масло, сложные масляные эфиры, такие как этилолеат, изопропилмиристат, связующие вещества, адъюванты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы, разрыхлители, скользящие вещества, смазочные вещества, буферные вещества, эмульгаторы, смачивающие агенты, суспендирующие агенты, подсластители, красители, ароматизаторы, покрывающие агенты, консерванты, антиоксиданты, технологические средства, модификаторы и усилители доставки лекарственного средства, такие как фосфат кальция, стеарат магния, тальк, моносахариды, дисахариды, крахмал, желатин, целлюлоза, метилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза, декстроза, гидроксипропил- β -циклодекстрин, поливинилпирролидон, низкоплавкие воски и ионообменные смолы.

Пути введения (доставки) соединений по изобретению включают, но не ограничиваются ими, один или несколько из: внутривенного, желудочно-кишечного, интраспинального, интраперитонеального, внутримышечного, перорального (например, в виде таблетки, капсулы или раствора для приема внутрь), местного, через слизистые оболочки (например, в виде назального спрея или аэрозоля для ингаляций), назального, парентерального (например, в виде инъекции), внутриматочного, внутриглазного, внутрикожного, интракраниального, интратрахеального, интравагинального, интрацеребровентрикулярного, интрацеребрального, подкожного, офтальмологического (включая интравитреальный или интракамеральный), трансдермального, ректального, буккального, эпидурального и сублингвального. Предпочтительно путь введения (доставки) соединений по изобретению представляет собой внутривенный.

Например, соединения можно вводить перорально в форме таблеток, капсул, суппозиторий в яйцевидной форме, эликсиров, растворов или суспензий, которые могут содержать ароматизаторы или красители, для применения с немедленным, отсроченным, модифицированным, непрерывным, импульсным или контролируемым высвобождением.

Таблетки могут содержать эксципиенты, такие как микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, цитрат натрия, карбонат кальция, двухосновный фосфат кальция и глицин, разрыхлители, такие как крахмал (предпочтительно кукурузный, картофельный или тапиоковый крахмал), натрия крахмалгликолят, кроскармеллозу натрия и некоторые комплексные силикаты, и связующие для грануляции, такие как поливинилпирролидон, гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC), гидроксипропилцеллюлоза (HPC), сахароза, желатин и гуммиарабик. Кроме того, могут быть включены смазывающие агенты, такие как стеарат магния, стеариновая кислота, бегенат глицерина и тальк. Твердые композиции аналогичного типа также можно использовать в качестве наполнителей желатиновых

капсул. Предпочтительные эксципиенты в для таких случаев включают крахмал, целлюлозу, молочный сахар (лактозу) или высокомолекулярные полиэтиленгликоли. Для водных суспензий и/или эликсиров агент можно объединять с различными подсластителями или вкусовыми добавками, красящим веществом или красителями, с эмульгирующими и/или суспендирующими агентами и с разбавителями, такими как вода, этанол, пропиленгликоль и глицерин, и их комбинациями.

Предпочтительно, для диагностики соединения по настоящему изобретению вводят парентерально. Если соединения по настоящему изобретению вводят парентерально, то примеры такого введения включают одно или несколько из: внутривенного, внутриартериального, внутрибрюшинного, интратекального, интравентрикулярного, внутриуретрального, интрастернального, интракраниального, внутримышечного или подкожного введения соединений; и/или с помощью методов инфузионного введения. Для парентерального введения соединения лучше всего использовать в виде стерильного водного раствора, который может содержать другие вещества, например, достаточное количество солей или глюкозы, для получения раствора изотоничного по отношению к крови. Водные растворы должны быть соответствующим образом забуферены (предпочтительно до pH от 3 до 9), при необходимости. Получение подходящих парентеральных композиций в стерильных условиях легко осуществить стандартными фармацевтическими методами, хорошо известными специалистам в данной области.

Как показано, соединения по настоящему изобретению можно вводить интраназально или путем ингаляции, и их удобно доставлять в форме сухого порошка для ингаляции или аэрозольного спрея из контейнера под давлением, помпы, спрея или небулайзера с использованием подходящего пропеллента, например, дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортetraфторэтана, гидрофторалкана, такого как 1,1,1,2-тетрафторэтан (HFA134AT) или 1,1,1,2,3,3,3-гептафторпропан (HFA 227EA), диоксид углерода или другой подходящий газ. В случае аэрозоля под давлением единицу дозирования можно определить путем установки клапана для подачи отмеренного количества. Контейнер под давлением, помпа, спрей или распылитель могут содержать раствор или суспензию активного соединения, например, с использованием смеси этанола и пропеллента в качестве растворителя, дополнительно включающий смазывающее вещество, например, сорбитан триолеат. Капсулы и картриджи (полученные, например, из желатина) для использования в ингаляторе или инсуффляторе могут содержать порошкообразную смесь соединения и подходящую порошковую основу, такую как лактоза или крахмал.

Альтернативно, соединения по настоящему изобретению можно вводить в форме суппозитория или пессария, или их можно применять местно в форме геля, гидрогеля, лосьона, раствора, крема, мази или присыпки. Соединения по настоящему изобретению также можно вводить дермально или чрескожно, например, с помощью кожного пластыря.

Их также можно вводить легочным или ректальным путем. Их также можно

вводить с помощью внутриглазного введения. Для офтальмологического применения соединения могут быть получены в виде микронизированных суспензий в изотоническом стерильном физиологическом растворе с установленным рН или, предпочтительно, в виде растворов в изотоническом стерильном физиологическом растворе с установленным рН, необязательно в сочетании с консервантом, таким как хлорид бензилалкония. Альтернативно, они могут быть получены в виде мази, такой как вазелин.

Для местного нанесения на кожу соединения по настоящему изобретению могут быть получены в виде подходящей мази, содержащей активное соединение, суспендированное или растворенное, например, в смеси с одним или несколькими из следующих веществ: минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, эмульгирующий воск и вода. Альтернативно, они могут быть получены в виде подходящего лосьона или крема, суспендированного или растворенного, например, в смеси с одним или несколькими из следующих веществ: минеральное масло, моностеарат сорбитана, полиэтиленгликоль, жидкий парафин, полисорбат 60, воск на основе цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и вода.

Обычно врач определяет точную дозу, которая будет наиболее подходящей для конкретного субъекта. Конкретный уровень дозы и частота введения для любого конкретного индивида могут варьироваться и зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия этого соединения, возраст, массу тела, общее здоровье, пол, диету, способ и время введения, скорость выведения, комбинацию лекарств, тяжесть конкретного состояния и индивидуума, подвергающегося диагностике.

Диагностические композиции по изобретению могут быть получены способом, известным специалисту, как описано, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publishing Co., New Jersey (1975).

Соединения по настоящему изобретению являются полезными в качестве аналитического эталона *in vitro* или инструмента скрининга *in vitro*. Они также полезны в способах диагностики *in vivo*.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть получены в форме смеси, фармацевтической композиции или комбинации, включающей соединение по настоящему изобретению и по меньшей мере одно соединение, выбранное из визуализирующего агента, отличного от соединения по настоящему изобретению, фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, разбавитель или адъювант. Визуализирующий агент, отличающийся от соединения по изобретению, предпочтительно присутствует в диагностически эффективном количестве. Более предпочтительно визуализирующий агент, отличающийся от соединения по изобретению, представляет собой Абета- или Тау- визуализирующий агент.

СПОСОБЫ

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу диагностики

заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у субъекта, включающему стадии:

(а) введение соединения по изобретению или диагностической композиции, которая включает соединение по изобретению, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания указанного соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Необязательно, указанный способ может дополнительно включать стадию:

(d) получения изображения, представляющего локализацию и/или количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способу визуализации с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающему стадии:

(а) введение соединения по изобретению или диагностической композиции, которая включает соединение по изобретению, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, путем сбора изображения позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) ткани субъекта;

В другом варианте осуществления изобретение относится к способу детекции и, необязательно, количественной оценки (например, способ *in vivo* или *in vitro*) агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающему стадии:

(а) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, количественное определение количества соединения, связанного

с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

В варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу сбора данных для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по настоящему изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по настоящему изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

Если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, выше нормального контрольного значения, можно предположить, что пациент страдает заболеванием, расстройством или аномалией, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу сбора данных для определения предрасположенности к заболеванию, расстройству или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по настоящему изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по настоящему изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви

и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

Если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, превышает нормальное контрольное значение здорового/эталонного субъекта, это указывает на то, что пациент страдает или подвержен риску развития заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина. В частности, если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, выше ожидаемого у человека, не имеющего клинических признаков заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, можно предположить, что пациент имеет предрасположенность к заболеванию, расстройству или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу сбора данных для прогнозирования заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающему стадии:

(a) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по настоящему изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по настоящему изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a)-(c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

Прогрессирование заболевания, расстройства или аномалии и/или перспектива (например, вероятность, продолжительность и/или степень) выздоровления могут быть оценены врачом на основании присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина или тому подобное. При желании стадии (a)-(c) и, при наличии, необязательную стадию (d) можно повторять с течением времени для мониторинга прогрессирования заболевания, расстройства или аномалии и, таким образом, получать

более достоверную оценку.

Дополнительный аспект относится к способу сбора данных для мониторинга прогрессирующего (или развития) заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у пациента, включающему стадии:

(а) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по настоящему изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по настоящему изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a)-(c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

В способе мониторинга прогрессирующего количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, можно необязательно сравнивать в различные моменты времени во время лечения, например, до и после начала лечения или в различные моменты времени после начала лечения.

Обычно пациент проходит или проходил лечение заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, или проходит/проходил лечение синуклеинопатии. В частности, лечение может включать введение лекарственного средства, подходящего для лечения заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способу сбора данных для прогнозирования реакции пациента, страдающего от заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, на лечение лекарственным средством, включающему стадии

(а) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по изобретению или диагностической композицией, которая включает соединение по изобретению;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(c) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (a)-(c) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

В способе прогнозирования ответной реакции способ может дополнительно включать стадии (i)-(vi) перед стадией (a):

(i) приведение образца или конкретной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по настоящему изобретению, которое специфически связывается с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(ii) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(iii) детекция образования соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(iv) необязательно корреляция присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с наличием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела;

(v) необязательно сравнение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с нормальным контрольным значением; и

(vi) лечение пациента лекарственным средством.

Необязательно, способ может дополнительно включать стадию (A) после стадии (d) или стадии (e):

(A) сравнение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, определенного на стадии (iv), с количеством соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, определенным на стадии (d).

В способе прогнозирования ответной реакции количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, можно необязательно сравнивать в различные моменты

времени во время лечения, например, до и после начала лечения или в различные моменты времени после начала лечения. Изменение, особенно уменьшение, количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, может указывать на то, что пациент имеет высокий потенциал ответа на соответствующее лечение.

Если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, со временем уменьшается, можно предположить, что пациент отвечает на лечение. Если количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, по существу постоянное или увеличивается с течением времени, можно предположить, что пациент не отвечает на лечение.

Альтернативно, ответную реакцию можно оценить путем определения количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина. Количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, можно сравнить с контрольным значением, таким как нормальное контрольное значение, доклиническое контрольное значение или клиническое контрольное значение. Альтернативно, контрольное значение может относиться к контрольному значению субъектов, о которых известно, что они отвечают на определенную терапию, или контрольное значение может относиться к контрольному значению субъектов, о которых известно, что они не отвечают на определенную терапию. Результат в отношении ответа может быть либо «реагирующий» на определенную терапию, «нереагирующий» на определенную терапию или «неопределенный ответ» на определенную терапию. Ответ на терапию может быть различным у разных пациентов.

Необязательно, диагностическую композицию можно использовать до, во время и после хирургических процедур (например, глубокой стимуляции мозга (DBS)) и неинвазивной стимуляции головного мозга (например, ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция (rTMS)), для визуализации агрегатов альфа-синуклеина перед, во время и после таких процедур. Хирургические методы, включая DBS, улучшают прогрессирующие симптомы PD в дополнение к лучшей используемой в настоящее время медицинской терапии. В течение последних 2 десятилетий, rTMS тщательно изучалась как возможный метод лечения PD (Ying-hui Chou et al. JAMA Neurol. 2015 April 1; 72(4): 432-440).

В любом из вышеперечисленных способов стадия необязательной корреляции присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; включает

- определение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

- корреляцию количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с количеством агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца

Левы и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

- необязательно сравнение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела с нормальным контрольным значением у здорового контрольного субъекта.

Контрольное значение может быть, например, нормальным контрольным значением, доклиническим контрольным значением и/или клиническим контрольным значением.

«Здоровый контрольный субъект» или «здоровый доброволец (HV)-субъект» представляет собой человека, у которого отсутствуют клинические признаки заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Если в любом из приведенных выше способов количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, превышает нормальное контрольное значение, то можно ожидать, что пациент страдает или может страдать от заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина или синуклеинопатией.

Образец или конкретная часть тела или участок тела, предположительно содержащий агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, приводят в контакт с соединением по настоящему изобретению.

Любое из соединений по настоящему изобретению можно использовать в приведенных выше способах. Предпочтительно детектируемо меченые соединения по настоящему изобретению используются в приведенных выше способах.

Конкретная часть тела или участок тела предпочтительно принадлежит млекопитающему, более предпочтительно человеку, включая все тело или часть тела или участок тела пациента, предположительно содержащий агрегаты альфа-синуклеина. Конкретной частью тела или областью тела может быть головной мозг, центральная нервная система, глаз или периферический орган, например кишечник, предпочтительно головной мозг.

Ткань может представлять собой ткань головного мозга, ткань центральной нервной системы (ЦНС), ткань глаза (например, ткань сетчатки), ткань периферических органов, таких как кишечник или другие ткани, или жидкости организма, такие как спинномозговая жидкость (СМЖ) или кровь. Ткань предпочтительно представляет собой ткань головного мозга. Предпочтительно образец представляет собой образец *in vitro* от пациента.

В вышеуказанных способах соединение по настоящему изобретению можно привести в контакт с образцом или конкретной частью тела или участком тела, предположительно содержащим агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, любым подходящим способом.

В способах *in vitro* соединение по настоящему изобретению и жидкий образец

можно просто смешать.

В способе *in vivo* конкретную часть тела или участок тела можно привести в контакт с соединением по изобретению путем введения пациенту эффективного количества соединения по изобретению.

Эффективное количество соединения по изобретению представляет собой количество, подходящее для определения присутствия или отсутствия агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце, конкретной части тела или участке тела с использованием выбранного аналитического метода. Количество особо не ограничено и будет зависеть от соединения формулы (I), типа детектируемой метки, чувствительности соответствующего аналитического способа и соответствующего устройства. Количество может быть выбрано соответствующим образом специалистом.

Затем соединению дают возможность связываться с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Стадия обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включает предоставление достаточного времени для связывания соединения по изобретению с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Количество времени, необходимое для связывания, будет зависеть от типа теста (например, *in vitro* или *in vivo*) и может быть определено специалистом в данной области с помощью рутинных экспериментов. В способе *in vivo* количество времени будет зависеть от времени, которое требуется для того, чтобы соединение достигло конкретной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Количество времени не должна быть слишком большим, чтобы избежать вымывания и/или метаболизма соединения по изобретению.

Соединение, которое связалось с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, может быть впоследствии обнаружено любым подходящим способом. Способ детекции соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, конкретно не ограничен и зависит, среди прочего, от детектируемой метки, типа образца, конкретной части тела или участка тела, а также от того, является ли способ способом *in vitro* или *in vivo*. Примеры возможных способов включают, но не ограничиваются ими, методику флуоресцентной визуализации или методику радионуклидной визуализации, такую как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и контрастная магнитно-резонансная томография (МРТ). Они описаны и позволяют визуализировать биомаркеры альфа-синуклеина. Метод флуоресцентной визуализации и/или метод радионуклидной визуализации можно использовать для мониторинга и/или визуализации распределения детектируемого меченого соединения в

образце или конкретной части тела или области тела. Система визуализации обеспечивает изображение связанной детектируемой метки, такой как радиоизотопы, в частности, позитронным излучателем или гамма-излучателем, присутствующие в тестируемом образце, тестируемой конкретной части тела или тестируемом участке тела. Предпочтительно соединение, связанное с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, обнаруживается с помощью устройства визуализации, такого как сканер ПЭТ или ОФЭКТ, более предпочтительно РЕТ.

Количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, можно определить с помощью визуального или количественного анализа, например, с использованием изображений ПЭТ-сканирования.

Соединение по настоящему изобретению или его предшественник также можно включить в тест-набор для детекции агрегатов белка альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви. Тест-набор обычно включает контейнер, содержащий одно или несколько соединений по настоящему изобретению или его предшественник(предшественники) и инструкции по использованию соединения с целью связывания с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, и детекции образования соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, так что присутствие или отсутствие соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, коррелирует с наличием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

Термин «тест-набор» в целом относится к любому диагностическому набору, известному в данной области техники. Более конкретно, последний термин относится к диагностическому набору, описанному в Zrein et al., Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1998, 5, 45-49.

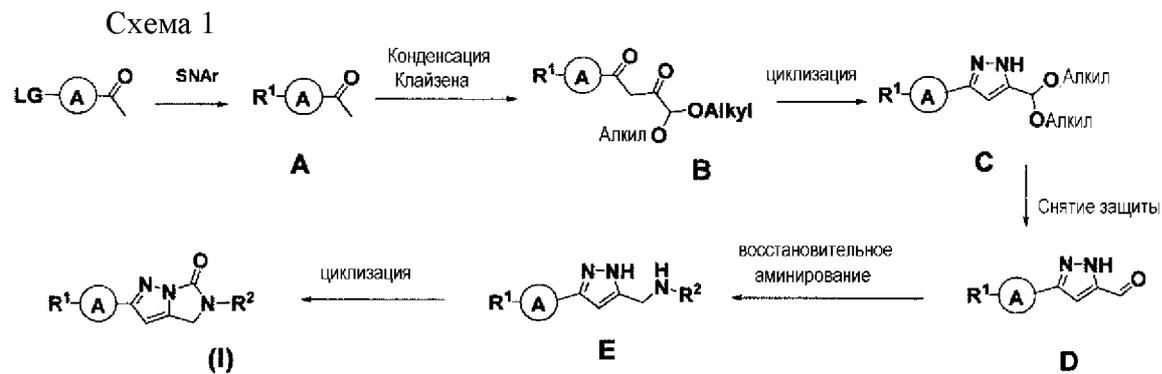
Доза детектируемо меченых соединений по настоящему изобретению, предпочтительно соединений формулы (I-F), меченных ^{18}F , или соединений формулы (I-N*) или (I-N), меченных ^3H , будет варьироваться в зависимости от конкретного вводимого соединения, массы пациента, размера и типа образца, и других переменных, которые будут очевидны врачу-специалисту в данной области. Обычно доза предпочтительно может находиться в диапазоне от 0,001 мкг/кг до 10 мкг/кг, предпочтительно от 0,01 мкг/кг до 1,0 мкг/кг. Радиоактивная доза может составлять, например, 100-600 МБк, более предпочтительно 150-450 МБк.

СПОСОБЫ СИНТЕЗА СОЕДИНЕНИЙ ПО ИЗОБРЕТЕНИЮ

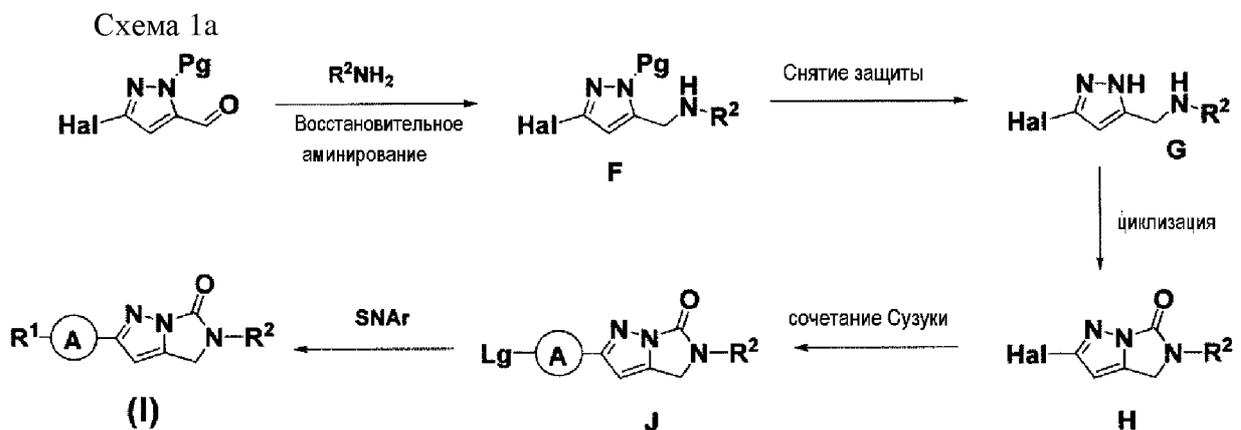
Соединения по настоящему изобретению могут быть получены в соответствии с определением соединения формулы (I) способами, описанными в следующих схемах или примерах. Все способы, описанные в настоящем документе, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если иное не указано в настоящем документе или иным

образом не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или вводного слова перед примером (например, «такие как»), представленных в настоящем документе, предназначено просто для лучшего освещения изобретения и не накладывает ограничений на заявленный объем изобретения. В следующих общих способах R^1 , R^2 , \textcircled{A} , X, LG и n имеют значения, определенные ранее в приведенных выше вариантах осуществления, или ограничиваются обозначениями на схемах. Если не указано иное, исходные вещества либо коммерчески доступны, либо их получают известными способами.

Общая схема синтеза для получения соединений и предшественников данного изобретения:



Коммерчески доступный кетон можно подвергнуть взаимодействию с нуклеофилом посредством реакции SNAr с получением промежуточного соединения **A**. Конденсация Клайзена с подходящим кетоном и сложным эфиром может дать промежуточное соединение **B**, которое можно подвергнуть кольцевой циклизации с использованием гидразина в подходящем растворителе. Снятие защиты ацетала с использованием условий кислой среды может привести к получению альдегида **D**. Восстановительное аминирование R^2 -амином и промежуточным соединением **D** в присутствии восстановительного реагента может дать промежуточное соединение **E**. Наконец, промежуточное соединение **E** можно циклизовать по кольцу, используя, например, CDI в подходящем растворителе, с получением соединений формулы **(I)**.



Восстановительное аминирование с использованием коммерчески доступного

альдегида и соответствующего амина может привести к получению промежуточного амина F. Затем снятие защиты с использованием адекватных условий может привести к образованию NH-пиразола G. Последующая кольцевая циклизация, например, с использованием CDI, может дать промежуточное соединение H. Кольцо можно ввести реакцией Сузуки с использованием источника палладия. Наконец, промежуточное соединение J можно дополнительно функционализировать, используя реакцию SNAr с соответствующим R¹, с получением соединений формулы (I).

Общий синтез ¹⁸F-меченых соединений по настоящему изобретению

Соединения формулы (I), меченные ¹⁸F, можно получить путем взаимодействия соединения-предшественника, как описано ниже, с ¹⁸F-фторирующим агентом, так чтобы LG в соединении-предшественнике замещалась на ¹⁸F.

Реагенты, растворители и условия, которые можно использовать для ¹⁸F-фторирования, хорошо известны специалистам в данной области (L. Cai, S. Lu, V. Pike, Eur. J. Org. Chem 2008, 2853-2873; J. Fluorine Chem., 27 (1985):177-191; Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), in: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlin Heidelberg, pp.15-50). Предпочтительно растворители, используемые при ¹⁸F-фторировании, представляют собой DMF, DMSO, ацетонитрил, DMA или их смеси, предпочтительно растворитель представляет собой ацетонитрил или DMSO.

Можно использовать любой подходящий ¹⁸F-фторирующий агент. Типичные примеры включают H¹⁸F, щелочные или щелочноземельные ¹⁸F-фториды (например, K¹⁸F, Rb¹⁸F, Cs¹⁸F и Na¹⁸F). Необязательно, ¹⁸F-фторирующий агент можно использовать в сочетании с хелатирующим агентом, таким как криптанд (например: 4,7,13,16,21,24-гексаокса-1,10-диазабцикло[8.8.8]-гексакозан - Kryptofix[®]) или краун-эфир (например: 18-crown-6). Альтернативно, ¹⁸F-фторирующий агент может представлять собой тетраалкиламмониевую соль ¹⁸F или тетраалкилфосфониевую соль ¹⁸F; например, тетра(C₁₋₆ алкил)аммониевая соль ¹⁸F или тетра(C₁₋₆ алкил)фосфониевая соль ¹⁸F. Предпочтительно ¹⁸F-фторирующий агент представляет собой K¹⁸F, H¹⁸F, Cs¹⁸F, Na¹⁸F, тетра(C₁₋₆ алкил)аммониевую соль ¹⁸F, Kryptofix[222]¹⁸F или [¹⁸F]фторид тетрабутиламмония.

Хотя реакция показана выше с использованием ¹⁸F в качестве радиоактивной метки, другие радиоактивные метки могут быть введены с помощью аналогичных процедур.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами, которые, однако, не должны рассматриваться как ограничивающие.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕРЫ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены способами, известными в области органического синтеза. Понятно, что во всех способах защитные группы для чувствительных или реакционноспособных групп могут использоваться там,

где необходимо, в соответствии с общими принципами химии. Защитными группами манипулируют в соответствии со стандартными способами органического синтеза (T. W. Green and P. G. M. Wuts (2014) *Protective Groups in Organic Synthesis*, 5th edition, John Wiley & Sons). Такие группы удаляют на удобной стадии синтеза соединения с использованием способов, которые очевидны специалистам в данной области.

Если не указано иное, все реагенты и растворители получали из коммерческих источников и использовали без дополнительной очистки.

Химические названия были получены с помощью программы ChemBioDraw Ultra v20 от CambridgeSoft.

Температуры указаны в градусах Цельсия. Если не указано иное, все выпаривания проводят при пониженном давлении, обычно между примерно 15 мм рт. ст и 100 мм рт. ст. (= 20-133 мбар). Структура конечных продуктов, промежуточных и исходных веществ подтверждается стандартными аналитическими методами, например микроанализом и спектроскопическими характеристиками, например, MS, ИК, ЯМР.

Сокращения

Используемые сокращения являются общепринятыми в данной области техники.

CDI	карбонилдиимидазол
CsF	фторид цезия
DCM	дихлорметан
DIEA	N, N-диизопропилэтиламин
DMF	диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
LCMS	Жидкостная хроматография Масс-спектрометрия
LG	уходящая группа
Pg	защитная группа
SNAr	нуклеофильное ароматическое замещение
STAB	натрия триацетоксиборгидрид
THF	тетрагидрофуран

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ДЕТАЛИ, ПРЕПАРАТИВНЫЕ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Измерения ЯМР проводили на спектрометре ЯМР DRX-400 МГц, на спектрометре ЯМР Bruker AV-400 МГц или на спектрометре ЯМР Spinsolve 80 Мц в дейтерированных растворителях с использованием или без использования тетраметилсилана (TMS) в качестве внутреннего стандарта. Химические сдвиги (δ) указаны в ppm слабополюные от TMS, структура расщепления спектров обозначена как синглет (с), дублет (д), триплет (т), квартет (кв), квинтет (квинт), септет (септ), мультиплет, неразрешенные или

перекрывающиеся сигналы (m) или уширенный сигнал (уш.). Дейтерированные растворители указаны в скобках и имеют химические сдвиги диметилсульфоксида (δ 2,50 ppm), метанола (δ 3,31 ppm), хлороформа (δ 7,26 ppm) или другого растворителя, как указано в спектральных данных ЯМР.

Масс-спектры (MS) записывали на масс-спектрометре Advion CMS или UPLC H-Class Plus с детектором Photodiode Array и масс-спектрометре Qda от Waters.

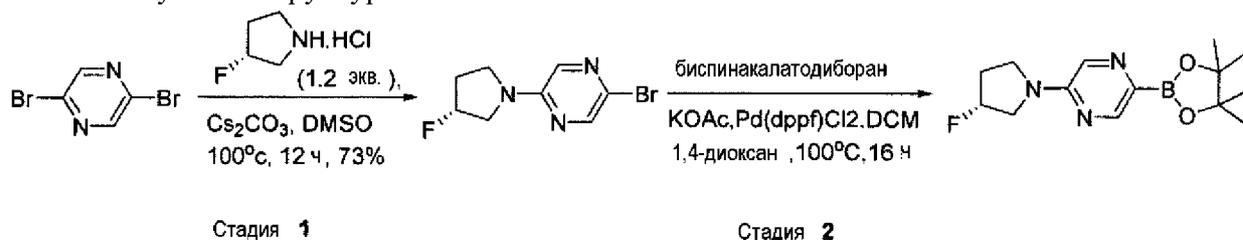
Колоночную хроматографию проводили с использованием силикагеля (Fluka: Silicagel 60, 0,063-0,2 мм) и подходящих растворителей, как указано в конкретных примерах.

Система колоночной флэш-хроматографии: флэш-очистку проводили с помощью системы флэш-очистки Biotage Isolera One с использованием картриджей HP-Sil или KP-NH SNAP (Biotage) и градиента растворителя, указанного в конкретных примерах.

Тонкослойную хроматографию (TLC) проводили на пластинах с силикагелем с УФ-детектированием.

Получение структурного блока

Получение структурного блока 1:



Стадия 1: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2,5-дибромпиразин (1,0 г, 4,2 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (0,63 г, 5,1 ммоль), Cs₂CO₃ (2,74 г, 8,4 ммоль) и DMSO (10 мл) в атмосфере аргона. Смесь нагревали до 100°C в течение 12 ч. Затем реакционную смесь гасили ледяной водой (15 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном (3×5 мл), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-бром-5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиразина в виде не совсем белого твердого вещества (0,76 г, 73%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,21 (д, 1H), 7,84 (д, 1H), 5,47 (дт, 1H), 3,71 (м, 2H), 3,60 (м, 1H), 3,44 (дд, 1H), 2,22 (м, 2H).

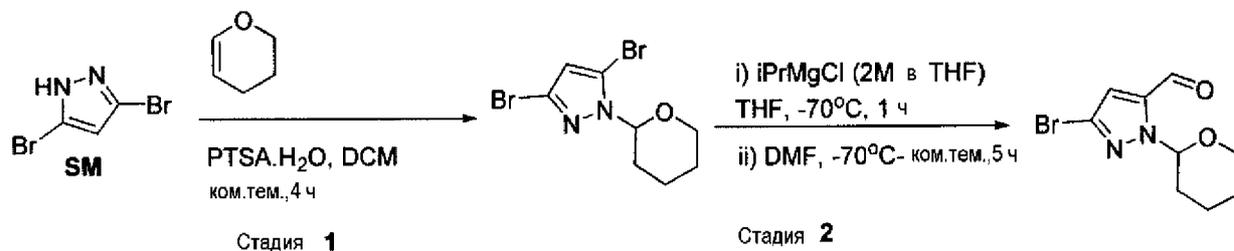
MS (ESI) 246,05 [M+H]⁺

Стадия 2:

В высушенную в печи круглодонную колбу добавляли (*R*)-2-бром-5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиразин (500 мг, 2,0 ммоль), биспинакалатодиборан (620 мг, 2,4 ммоль), KOAc (595 мг, 6,0 ммоль) и 1,4-диоксан (15 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (165 мг, 0,2 ммоль) и смесь нагревали до 100°C в течение 16 ч. После этого растворитель удаляли в высоком вакууме. К полученной неочищенной массе добавляли 40% EtOAc в гексане (3 х

40 мл х) и фильтровали через слой целита. Объединенный органический слой концентрировали под высоким вакуумом. Полученную массу (*R*)-2-(3-фторпирролидин-1-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиразин непосредственно использовали на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки. MS (ESI) 294,26 [M+H]⁺

Получение структурного блока 2:



Стадия 1: К раствору 3,5-дибром-1H-пиразола (10 г, 44,4 ммоль) в DCM (200 мл) добавляли 3,4-дигидро-2H-пиран (6,3 г, 75,5 ммоль) и *p*-толуолсульфоновую кислоту (PTSA) (0,5 г, 2,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре (ком.тем.) в течение 4 ч. За ходом реакции следили с помощью TLC. После завершения реакцию гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (2×60 мл х) и экстрагировали DCM (3×150 мл). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 4% EtOAc в гексане, с получением 3,5-дибром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразола в виде белого твердого вещества (22 г, 80%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 6,76 (с, 1H), 5,44 (дд, 1H), 3,90 (м, 1H), 3,61 (м, 1H), 2,19 (м, 1H), 1,97 (м, 1H), 1,87 (квд, 1H), 1,69 (м, 1H), 1,51 (м, 2H).

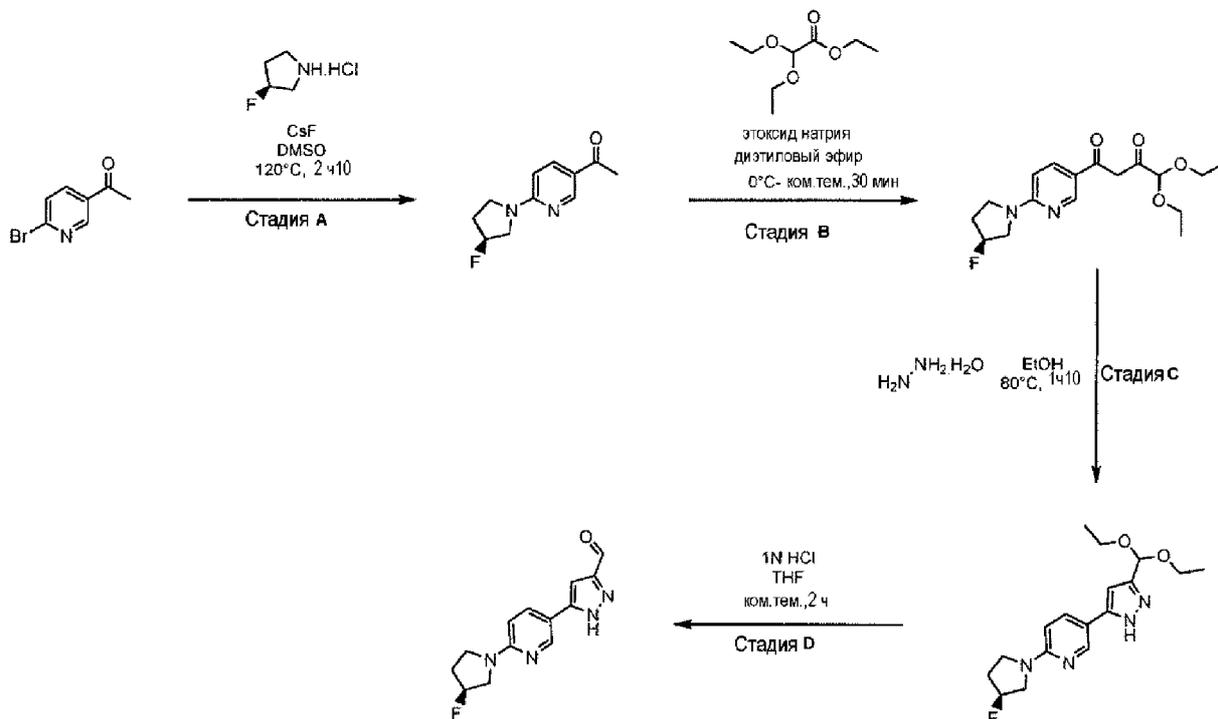
MS (ESI) 309,85 [M+H]⁺

Стадия 2: К раствору 3,5-дибром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразола (10 г, 32,3 ммоль) в THF (350 мл) добавляли *i*PrMgCl (2M в THF, 21 мл, 42 ммоль) по каплям с перемешиванием при -70°C в атмосфере аргона. Во время добавления температуру поддерживали ниже -60°C. Реакционную смесь перемешивали при -70°C/-60°C в течение 1 ч. Затем к реакционной смеси по каплям при перемешивании добавляли DMF (25 мл, 32,3 ммоль), поддерживая температуру ниже -60°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин при той же температуре, затем постепенно нагревали до комнатной температуры и выдерживали в течение 5 ч. После завершения реакцию гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl (80 мл) и экстрагировали EtOAc (3×150 мл). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 4% EtOAc в гексане, с получением 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида в виде желтого твердого вещества (6,3 г, 75%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 9,93 (с, 1H), 7,24 (с, 1H), 6,03 (дд, 1H), 3,90 (м, 1H), 3,63 (м, 1H), 2,19 (м, 1H), 1,95 (м, 3H), 1,65 (м, 1H), 1,53 (м, 2H).

MS (ESI) 259,95 [M+H]⁺

ПРЕПАРАТИВНЫЕ ПРИМЕРЫ

Препаративный пример 1

Стадия-А: В колбе нагревали при 120°C 1-(6-бромпиридин-3-ил)этанон (2, 10,00 ммоль), (S)-3-фторпирролидин гидрохлорид (2,51 г, 20,00 ммоль) и фторид цезия (9,11 г, 60,0 ммоль) в сухом диметилсульфоксиде (40 мл). Через 1 час 35 минут, добавляли фторид цезия (4,6 г, 30,0 ммоль) и смесь перемешивали при 120°C еще 35 минут. Добавляли воду и продукт экстрагировали три раза дихлорметаном. Объединенные органические слои промывали водой, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 20-80% этилацетата в гептане) с получением (S)-1-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)этенона в виде светло-желтого твердого вещества (1,66 г, 80%)

¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 8,73 (д, 1H), 7,99 (дд, 1H), 6,56 (д, 1H), 5,47 (д, 1H), 4,03-3,48 (м, 4H), 2,45 (с, 3H), 2,29-1,73 (м, 2H).

MS: 209,03 [M+H]⁺

Стадия В: В колбе в атмосфере аргона смешивали соединение со стадии А (1,65 г, 7,92 ммоль) и этилдиэтоксидацетат (4,27 мл, 23,77 ммоль) в диэтиловом эфире (60 мл). Добавляли этоксид натрия (3,24 г, 47,5 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Смесь разбавляли этилацетатом, охлаждали на бане со льдом и добавляли 1 н. водный раствор HCl до достижения pH 6-7. Смесь разбавляли водой и разделяли два слоя. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 20-80% этилацетата в гептане) с получением (S)-1-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-

ил)этенона в виде коричнево-желтого твердого вещества (2,39 г, 89%)

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 8,72 (д, J=4,7, 2,3 Гц, 1H), 8,00 (дд, J=9,1, 5,2, 2,4 Гц, 1H), 6,78-6,41 (м, 2H), 5,35 (д, 1H), 4,86 (д, J=12,5 Гц, 1H), 4,22-3,16 (м, 8H), 2,28-1,82 (м, 2H), 1,15 (т, 6H).

MS: 339,11 [M+H]⁺

Стадия С: В колбе в атмосфере аргона, соединение со стадии В (2,39 г, 7,06 ммоль) растворяли в этаноле (70 мл). Гидразингидрат (0,756 мл, 7,77 ммоль) добавляли по каплям и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч 10 мин. Растворитель выпаривали, неочищенный продукт растворяли в водном растворе бикарбоната натрия и дважды экстрагировали этилацетатом. Органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением (S)-5-(3-(диэтоксиметил)-1H-пиразол-5-ил)-2-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридина в виде белого твердого вещества (2,08 г, 6,22 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 12,91 (с, 1H), 8,50 (д, J=2,3 Гц, 1H), 7,89 (дд, J=8,8, 2,4 Гц, 1H), 6,73-6,42 (м, 2H), 5,89-4,97 (м, 2H), 3,95-3,42 (м, 8H), 2,37-1,59 (м, 2H), 1,15 (т, J=7,0 Гц, 6H).

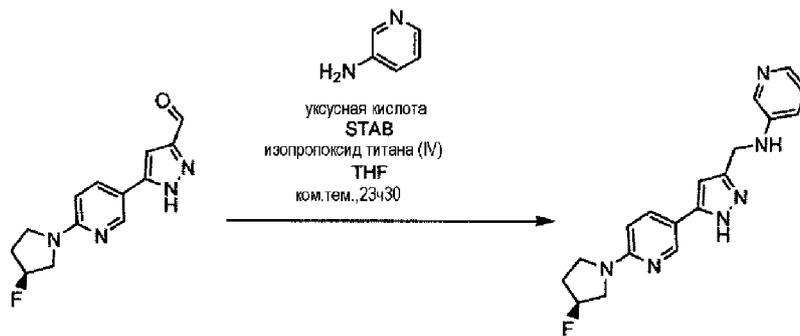
MS: 335,14 [M+H]⁺

Стадия D: Соединение со стадии С (2,08 г, 6,22 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (50 мл) и добавляли водный раствор 1n хлористоводородной кислоты (15 мл, 494 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч 20 мин. Дополнительно добавляли водный раствор 1n хлористоводородной кислоты (10 мл, 329 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 40 минут. Смесь подщелачивали до pH 14 водным раствором 1 n. гидроксида натрия. Добавляли этилацетат и водную фазу экстрагировали дважды. Органические слои объединяли и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным соевым раствором. Органический слой концентрировали с получением (S)-5-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-3-карбальдегида в виде белого твердого вещества (1,66 г, 6,38 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 9,90 (с, 1H), 8,58 (д, J=2,4 Гц, 1H), 7,95 (дд, J=8,8, 2,4 Гц, 1H), 7,12 (с, 1H), 6,60 (д, J=8,8 Гц, 1H), 5,46 (д, J=53,4 Гц, 1H), 4,12-3,52 (м, 4H), 2,22-1,72 (м, 2H).

MS: 261,05 [M+H]⁺

Препаративный пример 2



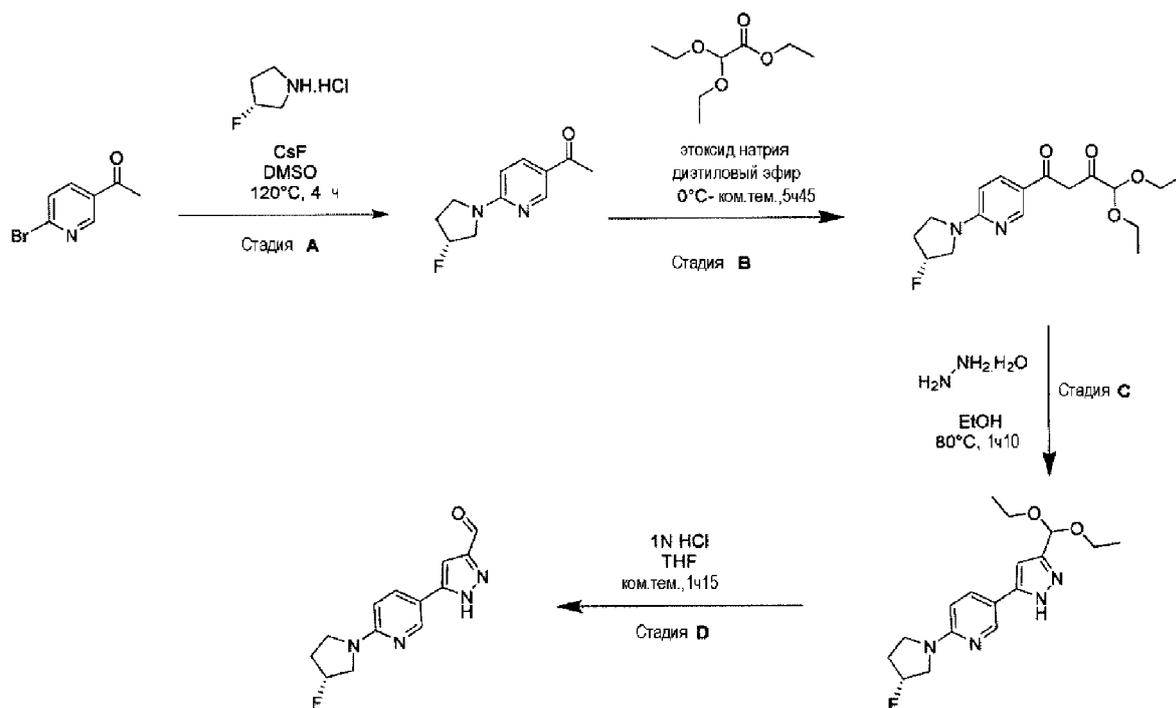
К раствору соединения из препаративного примера 1 (250 мг, 0,961 ммоль) в тетрагидрофуране (15 мл) при комнатной температуре добавляли изопропоксид титана (IV) (0,141 мл, 0,480 ммоль) и смесь перемешивали в течение 5 минут. Добавляли 3-аминопиридин (181 мг, 1,921 ммоль) и уксусную кислоту (6 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре до полного превращения в имин (20 ч). За это время добавляли 6 мл уксусной кислоты. Добавляли натрия триацетоксиборгидрид (1425 мг, 6,72 ммоль) и смесь перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили 1 н. водным раствором гидроксида натрия до достижения pH 14. Водный слой дважды экстрагировали этилацетатом. Органические слои объединяли, промывали дважды раствором 1н NaOH, один раз насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт суспендировали в дихлорметане, перемешивали при температуре кипения с обратным холодильником и подвергали горячему фильтрованию. Аналогичный процесс проводили с этанолом. Весь продукт перешел в фильтрат, и последний концентрировали досуха с получением (*S*)-N-((5-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-3-ил)метил)пиридин-3-амина в виде твердого вещества лососевого цвета (70,1 мг, 0,207 ммоль).

¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 12,80 (с, 1H), 8,46 (д, J=2,2 Гц, 1H), 8,11-7,66 (м, 3H), 7,20-6,87 (м, 2H), 6,66-6,40 (м, 2H), 6,28 (т, J=5,8 Гц, 1H), 5,44 (д, J=53,3 Гц, 1H), 4,24 (д, J=5,8 Гц, 2H), 3,93-3,48 (м, 4H), 2,24-1,88 (м, 2H).

¹⁹F ЯМР (76 МГц, DMSO-d₆) δ -69,70.

MS: 339,11 [M+H]⁺

Препаративный пример 3



Стадия А: В сосуде под аргоном смешивали 1-(6-бромпиридин-3-ил)этанон (2,5 г, 12,50 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин гидрохлорид (3,14 г, 25,00 ммоль) и фторид цезия (5,70 г, 37,5 ммоль) в сухом диметилсульфоксиде (40 мл). Смесь продували аргоном и перемешивали при 120°C в течение 1 ч 30 мин. Добавляли фторид цезия (2,9,18,8 ммоль) и смесь перемешивали при 120°C в течение еще 30 минут. Процесс повторяли еще раз. Добавляли воду и продукт экстрагировали шесть раз DCM. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 0-5% метанол в дихлорметане) с получением (*R*)-1-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)этенона в виде коричневого масла (2,40 г, 11,53 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO- d_6) δ 8,72 (д, 1H), 7,98 (дд, 1H), 6,55 (д, 1H), 5,56 (д, 1H), 4,04-3,39 (м, 4H), 2,45 (с, 3H), 2,38-1,78 (м, 2H).

MS: 209,05 [M+H] $^+$

Стадия В: В колбе в атмосфере аргона смешивали соединение со стадии А (2,40 г, 11,53 ммоль) и этилдиэтоксиацетат (2,072 мл, 11,53 ммоль) в диэтиловом эфире (70 мл). Добавляли этоксид натрия (1,569 г, 23,05 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 19 ч. Добавляли этилдиэтоксиацетат (2,072 мл, 11,53 ммоль) и этоксид натрия (1,569 г, 23,05 ммоль) при 0°C. Через 2 часа превращение не было полным; добавляли этилдиэтоксиацетат (1 мл, 5,56 ммоль) и этоксид натрия (1,569 г, 23,05 ммоль). Смесь разбавляли этилацетатом, охлаждали на бане со льдом и добавляли 1 н. водный раствор HCl (25 мл) до достижения pH 6-7. Смесь разбавляли водой и два слоя разделяли. Органический слой промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 0-10% метанол в дихлорметане), и повторно очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 20-80% этилацетат в гептане) с

получением (*R*)-4,4-дизтокси-1-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)бутан-1,3-диона в виде желтого твердого вещества (1,61 г, 4,76 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO- d_6) δ 8,72 (д, 1H), 8,00 (дд, 1H), 6,74-6,44 (м, 2H), 5,77 (д, 1H), 4,86 (д, 1H), 4,18-3,09 (м, 8H), 2,37-1,79 (м, 2H), 1,16 (т, 6H).

MS: 339,12 [M+H] $^+$

Стадия С: В колбе в атмосфере аргона, соединение со стадии В (1,61 г, 4,76 ммоль) растворяли в этаноле (65 мл). Гидразингидрат (0,509 мл, 5,23 ммоль) добавляли по каплям и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч 10 мин. Растворитель выпаривали, неочищенный продукт растворяли в водном растворе бикарбоната натрия и дважды экстрагировали этилацетатом. Органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением (*R*)-5-(3-(дизтоксиметил)-1H-пиразол-5-ил)-2-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридина в виде белого твердого вещества (1,37 г, 4,10 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO- d_6) δ 12,94 (с, 1H), 8,50 (д, 1H), 7,89 (дд, 1H), 6,66-6,42 (м, 2H), 5,86-5,04 (м, 2H), 3,94-3,42 (м, 8H), 2,22-1,58 (м, 2H), 1,15 (т, 6H).

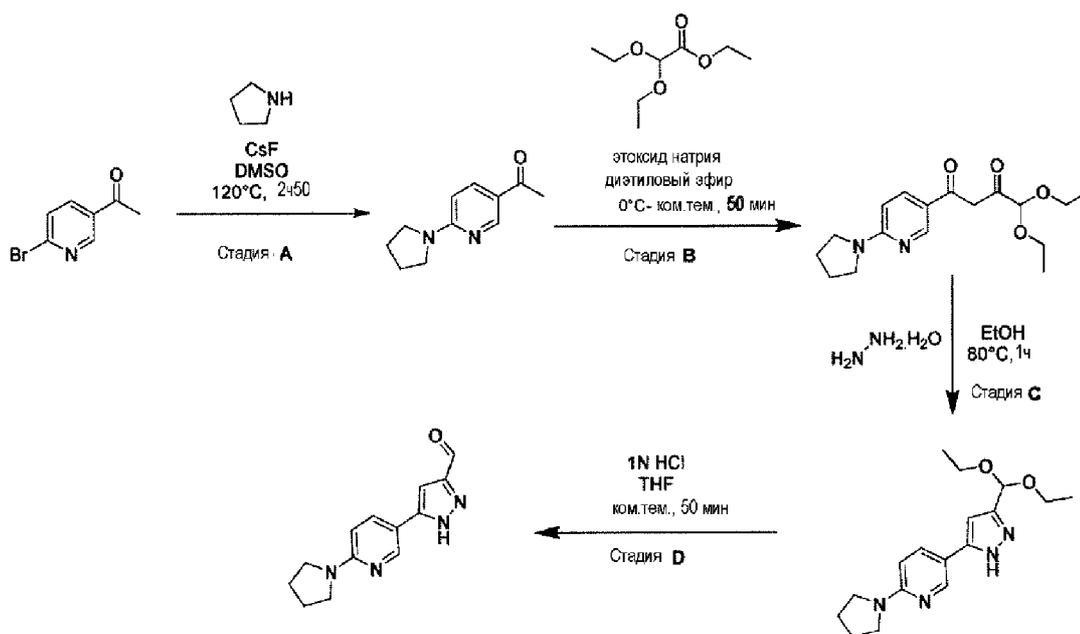
MS: 335,12 [M+H] $^+$

Стадия D: Соединение со стадии С (1,37 г, 4,10 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (40 мл) и добавляли водный раствор 1N хлористоводородной кислоты (10 мл, 329 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч 15 мин. Смесь подщелачивали до pH 14 водным раствором 1 н. гидроксида натрия. Добавляли этилацетат и насыщенный раствор NaHCO_3 и слои разделяли. Водную фазу экстрагировали дважды, органические слои объединяли и промывали один раз насыщенным соевым раствором. Органический слой концентрировали с получением (*R*)-5-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-3-карбальдегида в виде бежевого твердого вещества (912 мг, 3,50 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO- d_6) δ 9,90 (с, 1H), 8,58 (д, 1H), 7,95 (дд, 1H), 7,12 (с, 1H), 6,60 (д, 1H), 5,46 (д, 1H), 3,94-3,52 (м, 4H), 2,26-1,78 (м, 2H).

MS: 261,03 [M+H] $^+$

Препаративный пример 4



Стадия-А: В колбе смешивали 1-(6-бромпиридин-3-ил)этанон (2 г, 10,00 ммоль), пирролидин (2,504 мл, 30,0 ммоль) и фторид цезия (9,11 г, 60,0 ммоль) в сухом диметилсульфоксиде (60 мл). Смесь перемешивали при 120°C в течение 2 ч 50 мин. Добавляли воду и продукт дважды экстрагировали дихлорметаном. Органический слой промывали водой три раза, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением 1-(6-(пирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)этенона в виде оранжевого твердого вещества (1,84 г, 9,67 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 8,71 (д, 1H), 7,94 (дд, 1H), 6,48 (д, 1H), 3,64-3,36 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 2,15-1,76 (м, 4H).

MS: 191,04 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Стадия-В: В колбе под аргоном смешивали соединение со стадии А (1,84 г, 9,67 ммоль) и этилдиэтоксацетат (5,22 мл, 29,0 ммоль) в диэтиловом эфире (80 мл). Добавляли этоксид натрия (3,95 г, 58,0 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 50 мин. Смесь разбавляли этилацетатом, охлаждали на бане со льдом и добавляли 1 н. водный раствор HCl до достижения pH 6-7. Смесь разбавляли водой и два слоя разделяли. Водную фазу экстрагировали один раз. Органические слои объединяли, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 20-80% этилацетат в гептане) с получением 4,4-диэтокси-1-(6-(пирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)бутан-1,3-диона в виде желтого масла (3,1 г, 9,68 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 8,71 (д, 1H), 7,95 (дд, 1H), 6,66-6,38 (м, 2H), 5,01-4,73 (м, 2H), 4,11 (с, 1H), 3,80-3,28 (м, 8H), 2,10-1,78 (м, 4H), 1,32-0,97 (м, 6H).

MS: 321,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Стадия-С: В колбе в атмосфере аргона соединение со стадии В (3,1 г, 9,68 ммоль) растворяли в этаноле (80 мл). Гидразингидрат (1,036 мл, 10,64 ммоль) добавляли по

каплям и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Растворитель выпаривали, неочищенный продукт растворяли в водном растворе бикарбоната натрия и дважды экстрагировали этилацетатом. Органические слои промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением 5-(3-(диэтоксиметил)-1H-пиразол-5-ил)-2-(пирролидин-1-ил)пиридина в виде светло-желтого твердого вещества (1,88 г, 5,94 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 12,84 (с, 1H), 8,47 (д, 1H), 7,84 (дд, 1H), 6,66-6,30 (м, 2H), 5,52 (с, 1H), 3,80-3,34 (м, 8H), 2,08-1,78 (м, 4H), 1,15 (т, $J=7,0$ Гц, 6H).

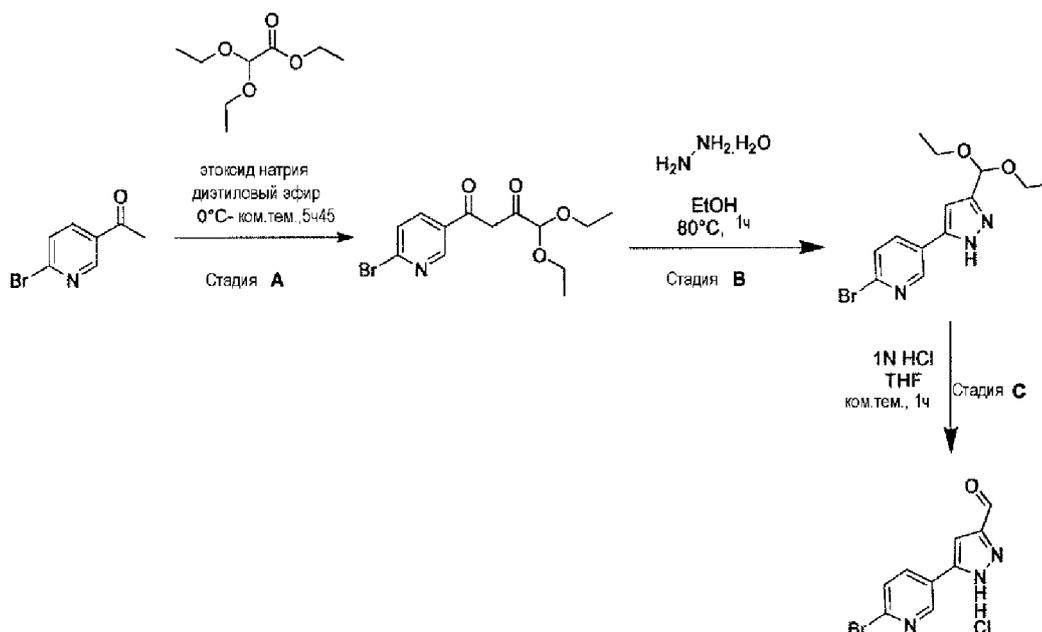
MS: 317,12 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Стадия-D: Соединение со стадии С (1,88 г, 5,94 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (50 мл) и добавляли водный раствор 1N хлористоводородной кислоты (25 мл, 823 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 50 минут. Смесь подщелачивали до pH 14 водным раствором 1 н. NaOH. Добавляли этилацетат и водную фазу экстрагировали дважды. Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , затем насыщенным солевым раствором. Органический слой концентрировали с получением 5-(6-(пирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-3-карбальдегида в виде светло-желтого твердого вещества (876 мг, 3,62 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 13,95 (с, 1H), 9,89 (с, 1H), 8,55 (д, 1H), 7,90 (дд, 1H), 7,08 (с, 1H), 6,53 (д, 1H), 3,56-3,36 (м, 4H), 2,08-1,83 (м, 4H).

MS: 243,06 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Препаративный пример 5



Стадия-A: В колбе в атмосфере аргона смешивали 1-(6-бромпиридин-3-ил)этанон (2 г, 10,00 ммоль) и этилдиэтоксацетат (1,798 мл, 10,00 ммоль) в диэтиловом эфире (50 мл). Добавляли этоксид натрия (0,680 г, 10,00 ммоль) при 0°C и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч 15 мин. Затем смесь кипятили с обратным

холодильником в течение 1 часа перед добавлением этоксида натрия (0,680 г, 10,00 ммоль). Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 1 часа 30 минут до завершения. Смесь разбавляли этилацетатом, охлаждали на бане со льдом и добавляли 1 н. водный раствор HCl (25 мл) до достижения pH 6-7. Смесь разбавляли водой и разделяли два слоя. Органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка Silica 100 г, 5-40% этилацетат в гептане) с получением 1-(6-бромпиридин-3-ил)-4,4-диэтоксипутан-1,3-диона в виде белого твердого вещества (1,175 г, 3,56 ммоль).

¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 8,93 (д, 1H), 8,22 (дд, 1H), 7,84 (д, 1H), 6,70 (с, 1H), 4,90 (д, 1H), 4,33 (с, 1H), 3,64 (кв, 4H), 1,18 (т, 6H).

MS: 331,98 [M+H]⁺

Стадия-В: В колбе в атмосфере аргона, соединение со стадии А (1,18 г, 3,57 ммоль) растворяли в этаноле (50 мл). Гидразингидрат (0,383 мл, 3,93 ммоль) добавляли по каплям и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Растворитель выпаривали, неочищенный продукт растворяли в водном растворе бикарбоната натрия и дважды экстрагировали этилацетатом. Органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением 2-бром-5-(3-(диэтоксиметил)-1H-пиразол-5-ил)пиридина в виде белого твердого вещества (1,17 г, 3,59 ммоль).

¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 13,19 (с, 1H), 8,82 (д, 1H), 8,13 (дд, 1H), 7,67 (д, 1H), 6,82 (с, 1H), 5,67 (с, 1H), 3,58 (кв, 4H), 1,16 (т, 6H).

MS: 326,00 [M+H]⁺

Стадия С: Соединение со стадии В (1,17 г, 3,59 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (40 мл) и добавляли раствор 1н хлористоводородной кислоты (10 мл, 329 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь подщелачивали до pH 9 водным раствором 1 н. NaOH. Добавляли этилацетат и насыщенный раствор NaHCO₃ и слои разделяли. Продукт осаждался в органической фазе и его фильтровали с получением 5-(6-бромпиридин-3-ил)-1H-пиразол-3-карбальдегид гидрохлорида в виде белого твердого вещества (989,1 мг, 3,92 ммоль).

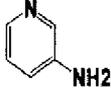
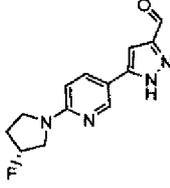
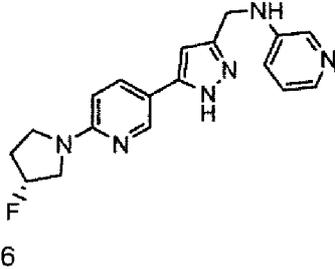
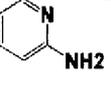
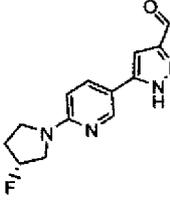
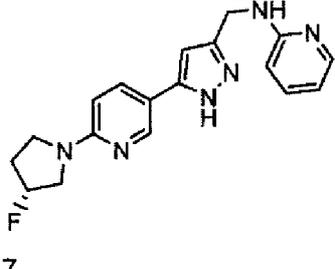
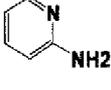
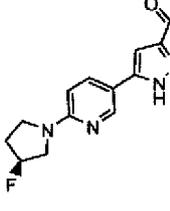
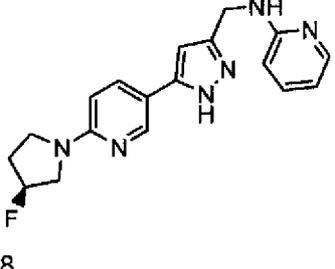
¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 9,87 (с, 1H), 8,86 (д, 1H), 8,16 (дд, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,28 (с, 1H).

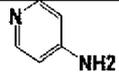
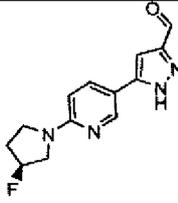
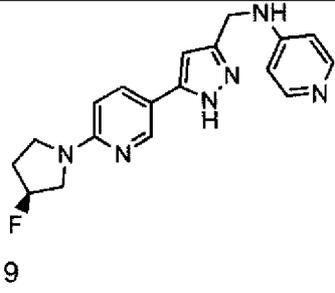
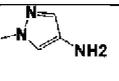
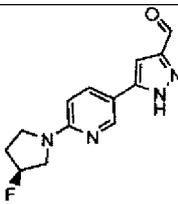
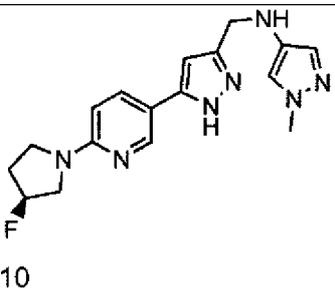
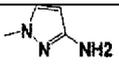
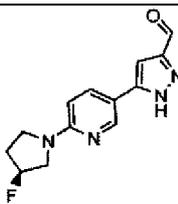
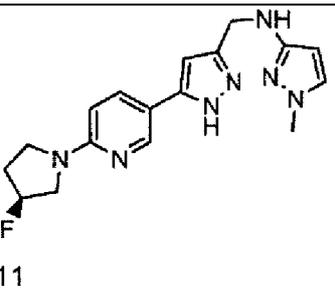
MS: 253,95 [M+H]⁺

Препаративные примеры 6-14

В соответствии с процедурой восстановительной реакции, описанной в препаративном примере 2, с использованием исходного альдегид-амин и восстановителя, указанных в таблице 1 ниже, получали следующие препаративные примеры.

Таблица 1

Амин	Восстано витель	Альдегид	Препаративный пример	1. Выход 2. ¹ H-ЯМР 3. MH ⁺ (ESI)
	STAB		 6	1. 7% 2. ¹ H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 12,78 (с, 1H), 8,55-8,35 (м, 1H), 8,12-7,65 (м, 3H), 7,19-6,84 (м, 2H), 6,60 (д, 1H), 6,49 (с, 1H), 6,27 (т, 1H), 5,44 (д, 1H), 4,25 (д, 2H), 3,98-3,49 (м, 4H), 2,21-1,82 (м, 2H). 3. 339,08
	STAB		 7	1. 16% 2. ¹ H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 12,68 (с, 1H), 8,46 (д, 1H), 8,10-7,73 (м, 2H), 7,38 (т, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,64-6,35 (м, 4H), 5,44 (д, 1H), 4,43 (д, 2H), 3,97-3,49 (м, 4H), 2,22-1,75 (м, 2H). 3. 339,06
	NaCNBH 3		 8	1. 15% 2. ¹ H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 12,62 (с, 1H), 8,49 (д, 1H), 8,12-7,74 (м, 2H), 7,42 (т, 1H), 6,86 (с, 1H), 6,67-6,36 (м, 4H), 5,47 (д, 1H), 4,47 (д, 2H), 4,00-3,60 (м, 4H), 2,26-1,79 (м, 2H). 3. 339,10

	NaCNBH 3		 9	1. 16% 2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d ₆) δ 12,53 (с, 1H), 8,47 (д, 1H), 8,03 (д, 2H), 7,85 (дд, 1H), 7,02 (т, 1H), 6,68-6,38 (м, 4H), 5,45 (д, 1H), 4,27 (д, 2H), 3,92-3,49 (м, 4H), 2,23-1,87 (м, 2H). 3. 339,11
	NaCNBH 3		 10	1. 39% 2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d ₆) δ 12,66 (с, 1H), 8,46 (д, 1H), 7,85 (дд, 1H), 7,07 (с, 1H), 6,97 (с, 1H), 6,63-6,43 (м, 2H), 5,45 (д, 1H), 4,70 (т, 1H), 4,00 (д, 2H), 3,93-3,38 (м, 7H), 2,23-1,90 (м, 2H). 3. 342,11
	NaCNBH 3		 11	1. 57% 2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d ₆) δ 12,62 (с, 1H), 8,45 (д, 1H), 7,84 (дд, 1H), 7,30 (д, 1H), 6,65-6,38 (м, 2H), 5,45 (д, 1H), 5,44 (д, 1H), 4,17 (д, 2H), 3,92-3,42 (м, 7H), 2,24-1,89 (м, 2H). 3. 342,11

Стадия А: К раствору соединения из препаративного примера 2 (65,1 мг, 0,192 ммоль) в дихлорэтано (6 мл) при комнатной температуре добавляли 1,1'-карбонилдиимидазол (312 мг, 1,924 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Неочищенную реакционную смесь фильтровали и промывали небольшим количеством холодного дихлорэтана с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6(5H)-она в виде твердого вещества бледно-розового цвета (50,3 мг, 0,138 ммоль).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 8,97 (д, 1H), 8,67 (д, 1H), 8,42 (д, 1H), 8,19 (д, 1H), 8,05 (дд, 1H), 7,51 (дд, 1H), 6,93 (с, 1H), 6,62 (д, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,15 (с, 2H), 3,95-3,54 (м, 4H), 2,35-2,11 (м, 2H).

^{19}F ЯМР (76 МГц, DMSO-*d*₆) δ -69,68.

MS: 365,12 [M+H]⁺

Стадия В: К раствору соединения из стадии А (19 мг, 0,052 ммоль) в диоксане (3 мл) при комнатной температуре добавляли 4М HCl в диоксане (0,025 мл, 0,1 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч 40 мин. Растворитель выпаривали с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6(5H)-он гидрохлорида в виде твердого вещества бледно-розового цвета (23,3 мг, 0,058 ммоль).

^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9,04 (д, 1H), 8,63-8,21 (м, 4H), 7,64 (дд, 1H), 7,16-6,89 (м, 2H), 5,93-5,12 (м, 3H), 4,08-3,67 (м, 4H), 2,28-1,86 (м, 2H).

^{19}F ЯМР (76 МГц, DMSO-*d*₆) δ -69,58.

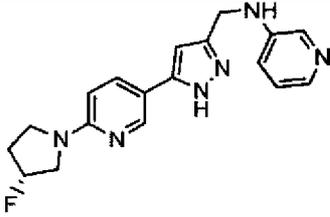
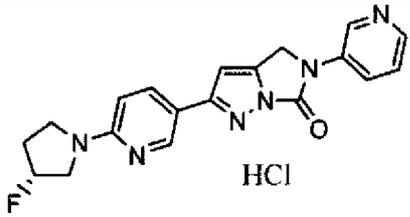
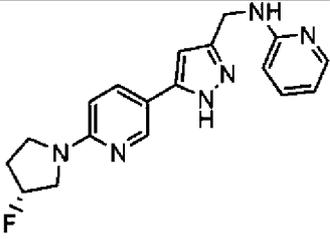
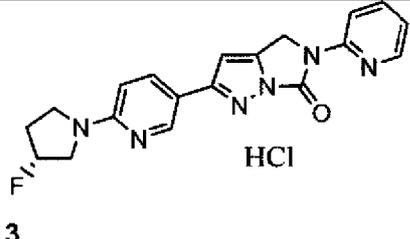
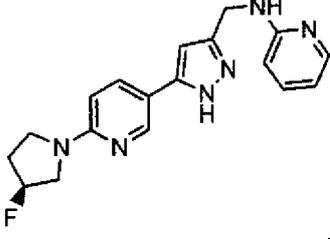
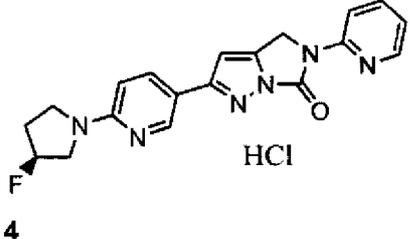
MS: 365,20 [M+H]⁺

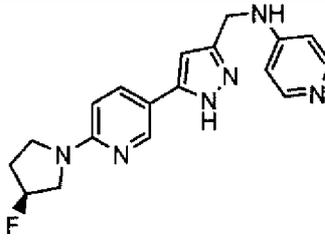
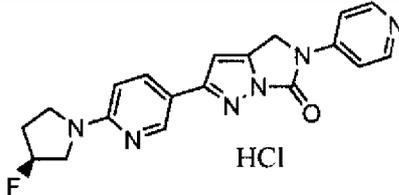
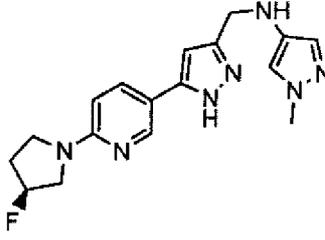
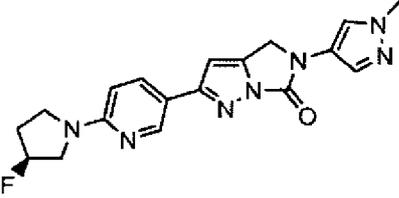
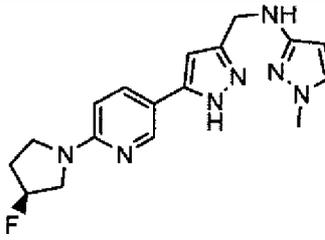
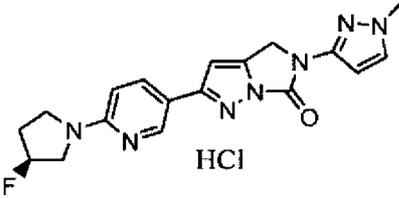
Примеры 2-9

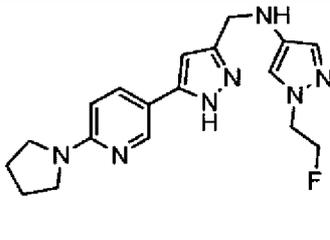
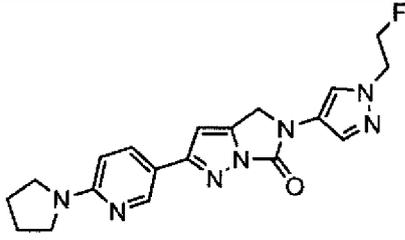
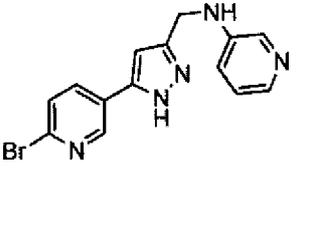
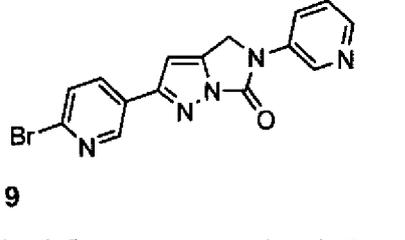
Следуя процедуре реакции циклизации, как описано в примере 1, с использованием вещества, указанного в таблице 2 ниже, получали следующие примеры.

Таблица 2:

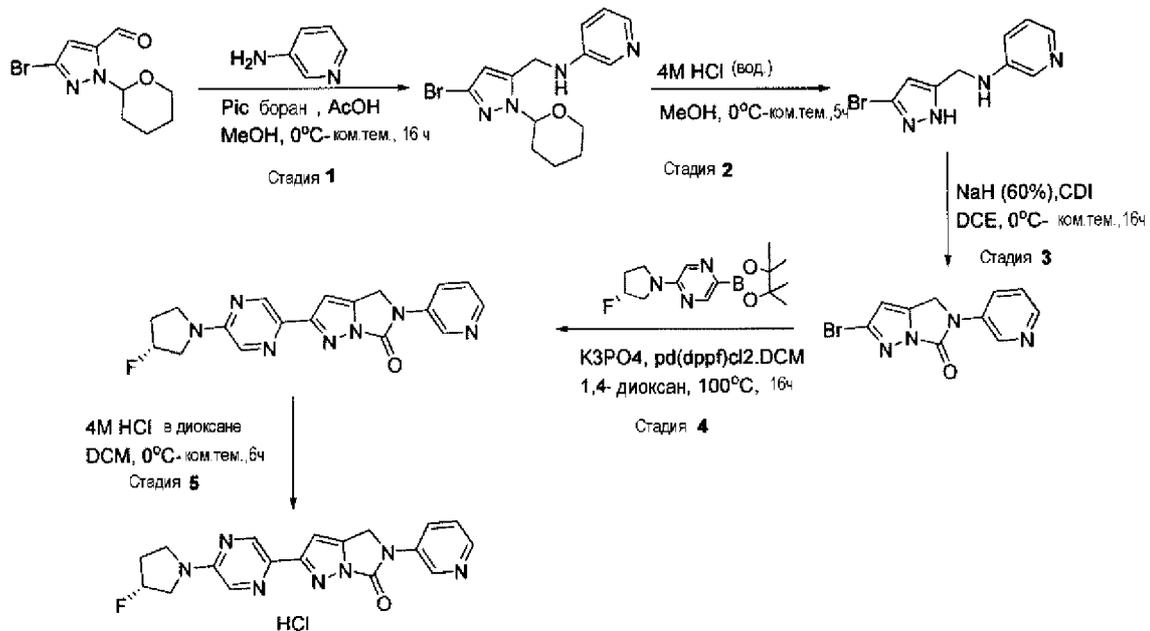
Исходное вещество	Пример	1. Выход (за две стадии) 2. ^1H -ЯМР 3. MH ⁺ (ESI)

 <p>2</p> <p>(<i>R</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	 <p>2</p> <p>(<i>R</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	<p>1. 78%</p> <p>2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 9,06 (д, 1H), 8,62-8,22 (м, 4H), 7,66 (дд), 7,20-6,92 (м, 2H), 5,97-5,08 (м, 3H), 3,77 (с, 4H), 2,24-1,92 (м, 2H).</p> <p>3. 365,12</p>
 <p>3</p> <p>(<i>R</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-2-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он</p>	 <p>3</p> <p>(<i>R</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-2-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он</p>	<p>1. 48%</p> <p>2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 8,57 (д, 1H), 8,45 (дд, 1H), 8,37-8,17 (м, 2H), 7,94 (тд, 1H), 7,23 (т, 1H), 7,06-6,82 (м, 2H), 5,95-5,00 (м, 3H), 4,13-3,70 (м, 4H), 2,32-1,99 (м, 2H).</p> <p>3. 365,08</p>
 <p>4</p> <p>(<i>S</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-2-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	 <p>4</p> <p>(<i>S</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-2-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	<p>1. 62%</p> <p>2. ^1H ЯМР (80 МГц, DMSO-d_6) δ 8,58 (д, 1H), 8,46 (д, 1H), 8,33 (д, 1H), 8,23 (д, 1H), 7,95 (тд, 1H), 7,23 (т, 1H), 7,05-6,85 (м, 2H), 5,96-5,05 (м, 3H), 4,07-3,50 (м, 4H), 2,30-1,84 (м, 2H).</p> <p>3. 365,09</p>

	 <p>5 (<i>S</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-4-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	<p>1. 73%</p> <p>2. ¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 8,85 (д, 2H), 8,65 (д, 1H), 8,36-8,08 (м, 3H), 7,11 (с, 1H), 6,84 (д, 1H), 5,97-5,09 (м, 3H), 4,11-3,51 (м, 4H), 2,23-1,81 (м, 2H).</p> <p>3. 365,12</p>
	 <p>6 (<i>S</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он</p>	<p>Выполнена только стадия А</p> <p>1. 35%</p> <p>2. ¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 8,65 (д, 1H), 8,21-7,91 (м, 2H), 7,66 (с, 1H), 6,88 (с, 1H), 6,60 (д, 1H), 5,45 (д, 1H), 4,93 (с, 2H), 3,99-3,47 (м, 7H), 2,21-1,86 (м, 2H).</p> <p>3. 368,08</p>
	 <p>7 (<i>S</i>)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-3-ил)-4H-имидазо[1,5-<i>b</i>]пиразол-6(5H)-он гидрохлорид</p>	<p>1. 38%</p> <p>2. ¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d₆) δ 8,53 (д, 1H), 8,32 (дд, 1H), 7,74 (д, 1H), 7,02 (т, 2H), 6,55 (д, 1H), 5,54 (д, 1H), 5,01 (с, 2H), 4,23-3,63 (м, 7H), 2,28-1,79 (м, 2H).</p> <p>3. 368,08</p>

 <p>8 5-(1-(2-фторэтил)-1H-пиразол-4-ил)-2-(6-(пирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-b]пиразол-6(5H)-он</p>		<p>Выполнена только стадия А</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 45% 2. ¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 8,63 (д, 1H), 8,19-7,90 (м, 2H), 7,74 (с, 1H), 6,87 (с, 1H), 6,54 (д, 1H), 5,01 (с, 2H), 4,79-4,17 (м, 4H), 3,57-3,38 (м, 4H), 2,10-1,81 (м, 4H). 3. 382,13
 <p>9 2-(6-бромпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4H-имидазо[1,5-b]пиразол-6(5H)-он</p>		<p>Выполнена только стадия А</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 75% 2. ¹H ЯМР (80 МГц, DMSO-d6) δ 8,98 (д, 2H), 8,44 (д, 1H), 8,38-8,08 (м, 2H), 7,79 (д, 1H), 7,52 (дд, 1H), 7,17 (с, 1H), 5,20 (с, 2H). 3. 357,93

Пример 10



Стадия 1: К раствору 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (6,0 г, 23,2 ммоль) и пиридин-3-амин (2,1 г, 23,2 ммоль) в метаноле (240 мл) добавляли ледяную AcOH (0,13 мл, 2,3 ммоль) при комнатной температуре в

атмосфере N_2 . Затем смесь перемешивали в течение 30 мин. После этого добавляли боран Bor (2,4 г, 23,1 ммоль) и смесь оставляли перемешиваться в течение еще 16 часов. За ходом реакции следили с помощью TLC. Реакционную смесь гасили насыщ. водн. раствором $NaHCO_3$ и продукт экстрагировали DCM три раза (100 мл x3). Экстракт сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 2% MeOH в DCM, с получением N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)пиридин-3-амина в виде коричневатой жидкости (4,2 г, 53%).

1H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,00 (д, 1H), 7,80 (дд, 1H), 7,08 (дд, 1H), 6,95 (дкв, 1H), 6,39 (т, 1H), 6,30 (с, 1H), 5,51 (дд, 1H), 4,40 (м, 2H), 3,87 (м, 1H), 3,66 (м, 1H), 2,18 (м, 1H), 1,97 (м, 1H), 1,88 (тд, 1H), 1,64 (м, 1H), 1,51 (м, 2H).

MS (ESI): 338,38 [M+H]⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)пиридин-3-амина (4,2 г, 12,5 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли водн. 4M HCl (29,5 мл, 7,0 об.) при 0°C в атмосфере N_2 и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Время реакции контролировали с помощью TLC. После завершения реакцию смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9. Растворитель удаляли в вакууме и продукт экстрагировали DCM три раза (80 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Полученную массу промывали гексаном три раза (15 мл x3), сушили под вакуумом с получением N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)пиридин-3-амина в виде желтого твердого вещества (400 мг, 80%), непосредственно использовали для следующей стадии без дополнительной очистки.

1H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 13,10 (с, 1H), 7,99 (д, 1H), 7,80 (дд, 1H), 7,08 (дд, 1H), 6,93 (дкв, 1H), 6,32 (т, 1H), 6,27 (с, 1H), 4,28 (д, 2H).

MS (ESI): 254,83 [M+H]⁺

Стадия 3: К охлажденному льдом раствору N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)пиридин-3-амина (2,5 г, 9,8 ммоль) в 1,2-DCE (250 мл) добавляли NaN (60% диспергированный в минеральном масле) (120 мг, 4,9 ммоль) в атмосфере N_2 . Затем смесь оставляли до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем, CDI (16,0 г, 99 ммоль) добавляли в реакционную смесь и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой и продукт экстрагировали DCM три раза (70 мл x3). Экстракт сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-бром-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде желтого твердого вещества (1,65 г, 61%).

1H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,94 (м, 1H), 8,44 (дд, 1H), 8,16 (дкв, 1H), 7,52 (дд, 1H), 6,74 (т, 1H), 5,14 (д, 2H).

MS (ESI): 279,04 [M]⁺

Стадия 4: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-

бром-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пирозол-6-он (120 мг, 0,43 ммоль), бороновый эфир (600 мг, 0,6 ммоль), K_3PO_4 (166 мг, 1,3 ммоль) и 1,4-диоксан (5,0 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ (35 мг, 0,043 ммоль) и смесь нагревали до $100^\circ C$ в течение 16 ч. Расход реагентов осуществлялся под контролем TLC. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали DCM три раза (10 мл x3). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением (R)-2-(5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиазин-2-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пирозол-6-она в виде белого твердого вещества (15 мг, 10%)

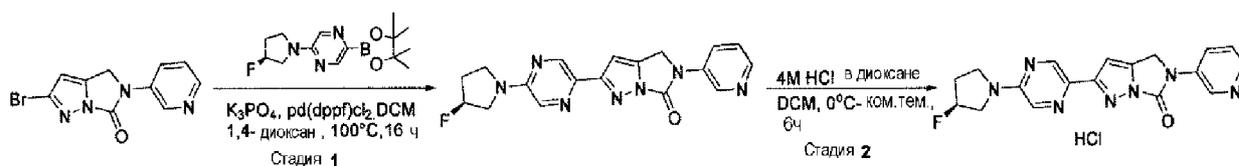
1H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,97 (д, 1H), 8,75 (д, 1H), 8,43 (кв, 1H), 8,21 (м, 1H), 8,10 (д, 1H), 7,52 (кв, 1H), 6,90 (с, 1H), 5,51 (д, 1H), 5,17 (д, 2H), 3,78 (м, 3H), 3,54 (м, 1H), 2,25 (м, 2H).

Стадия 5: К перемешиваемому раствору (R)-2-(5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиазин-2-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пирозол-6-она (15 мг, 0,041 ммоль) в DCM (2,0 мл) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,075 мл) при $0^\circ C$ в атмосфере N_2 и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением в виде белого твердого вещества (10 мг, 62%).

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- D_6) δ 9,08 (д, 1H), 8,75 (д, 1H), 8,53 (дт, 1H), 8,39 (д, 1H), 8,10 (д, 1H), 7,79-7,68 (м, 1H), 7,03-6,82 (м, 1H), 5,51 (д, 1H), 5,19 (с, 2H), 3,84-3,64 (м, 3H), 3,64-3,52 (м, 1H), 2,41-2,13 (м, 2H).

LCMS: 365,95 [M]⁺

Пример 11



Стадия 1: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пирозол-6-он (120 мг, 0,43 ммоль), бороновый эфир (600 мг, 0,6 ммоль), K_3PO_4 (166 мг, 1,3 ммоль) и 1,4-диоксан (5,0 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ (35 мг, 0,043 ммоль) и смесь нагревали до $100^\circ C$ в течение 16 ч. Расход реагентов осуществлялся под контролем TLC. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали DCM три раза (10 мл x3). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением (S)-2-(5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиазин-2-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пирозол-6-она в виде белого твердого вещества (20 мг, 13%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-D6) δ 8,97 (д, 1H), 8,75 (д, 1H), 8,43 (дд, 1H), 8,20 (ddd, 1H), 8,10 (д, 1H), 7,52 (дд, 1H), 6,96-6,86 (м, 1H), 5,51 (д, 1H), 5,17 (с, 2H), 3,93-3,62 (м, 3H), 3,62-3,46 (м, 1H), 2,35-2,10 (м, 2H).

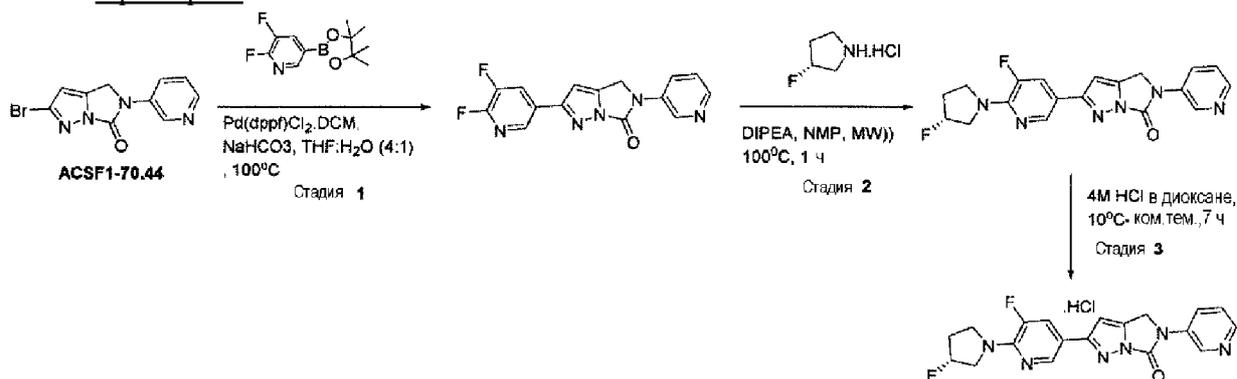
LCMS: 365,8 [M]⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиразин-2-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (20 мг, 0,054 ммоль) в DCM (1,6 мл, 80 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,1 мл, 5,0 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем, растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(5-(3-фторпирролидин-1-ил)пиразин-2-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (15 мг, 71%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-D6) δ 9,21-9,16 (м, 1H), 8,76 (д, 1H), 8,68-8,55 (м, 2H), 8,11 (д, 1H), 7,92 (дд, 1H), 6,94 (с, 1H), 5,51 (д, 1H), 5,21 (с, 2H), 3,94-3,64 (м, 3H), 3,64-3,52 (м, 1H), 2,42-2,11 (м, 2H).

LCMS: 365,9 [M]⁺

Пример 12



Стадия 1: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (250 мг, 0,89 ммоль), бороновый эфир (323 мг, 1,39 ммоль), NaHCO₃ (376 мг, 4,48 ммоль) и (THF/H₂O) (4:1, 5,0 мл, 20 об.) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (73 мг, 0,089 ммоль) и смесь нагревали до 100°C в течение 5 ч. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали EtOAc три раза (30 мл Хх3). Органический слой сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-(5,6-дифторпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде коричневого твердого вещества (100 мг, 35%).

^1H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,98 (д, 1H), 8,67 (т, 1H), 8,57 (м, 1H), 8,45 (дд, 1H), 8,21 (дкв, 1H), 7,53 (дд, 1H), 7,18 (с, 1H), 5,21 (с, 2H).

MS (ESI): 314,56 [M+H]⁺

Стадия 2: 2-(5,6-дифторпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-

имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (50 мг, 0,15 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (20 мг, 0,23 ммоль), DIPEA (0,06 мл, 0,48 ммоль) и NMP (2,0 мл) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 100°C в течение 1 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (5 мл). Неочищенную реакцию смесь фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (3 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде не совсем белого твердого вещества (32 мг, 52%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*D*₆) δ 8,97 (д, 1H), 8,54 (с, 1H), 8,42 (д, 1H), 8,27-8,13 (м, 1H), 7,92 (д, 1H), 7,51 (дд, 1H), 7,00 (с, 1H), 5,44 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 3,85 (тд, 3H), 3,69 (кв, 1H), 2,31-2,03 (м, 2H).

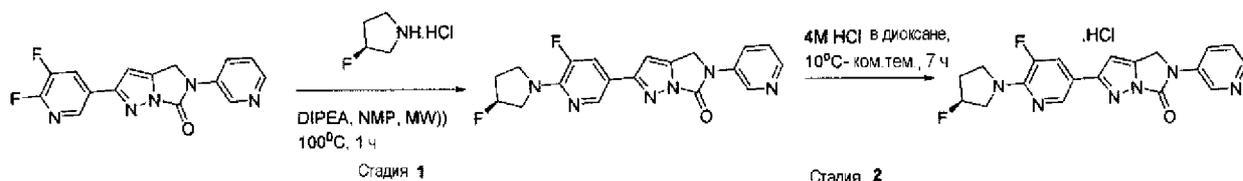
LCMS: 382,9 [M]⁺

Стадия 3: К перемешиваемому раствору (*R*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (32 мг, 0,08 ммоль) в 1,4-диоксане (1,0 мл, 30 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,16 мл, 5,0 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 7 ч. Затем, растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*R*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде не совсем белого твердого вещества (30 мг, 85%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*D*₆) δ 9,09 (д, 1H), 8,54 (с, 2H), 8,42 (д, 1H), 7,95 (дд, 1H), 7,74 (дд, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,44 (д, 1H), 5,19 (д, 2H), 3,92-3,65 (м, 4H), 2,32-2,03 (м, 2H).

LCMS: 383,2 [M+H]⁺

Пример 13



Стадия 1: 2-(5,6-дифторпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (30 мг, 0,095 ммоль), (*S*)-3-фторпирролидин хлороводород (17 мг, 0,14 ммоль), DIPEA (0,05 мл, 0,18 ммоль) и NMP (0,6 мл, 20 об.) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 100°C в течение 1 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (5 мл). Неочищенную реакцию смесь фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (3 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*S*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде не совсем белого твердого вещества (20 мг, 55%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*D*₆) δ 8,96 (д, 1H), 8,54 (т, 1H), 8,42 (дд, 1H), 8,20 (д, 1H),

7,94 (дд, 1H), 7,51 (дд, 1H), 7,00 (с, 1H), 5,44 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 3,98-3,62 (м, 4H), 2,33-1,98 (м, 2H).

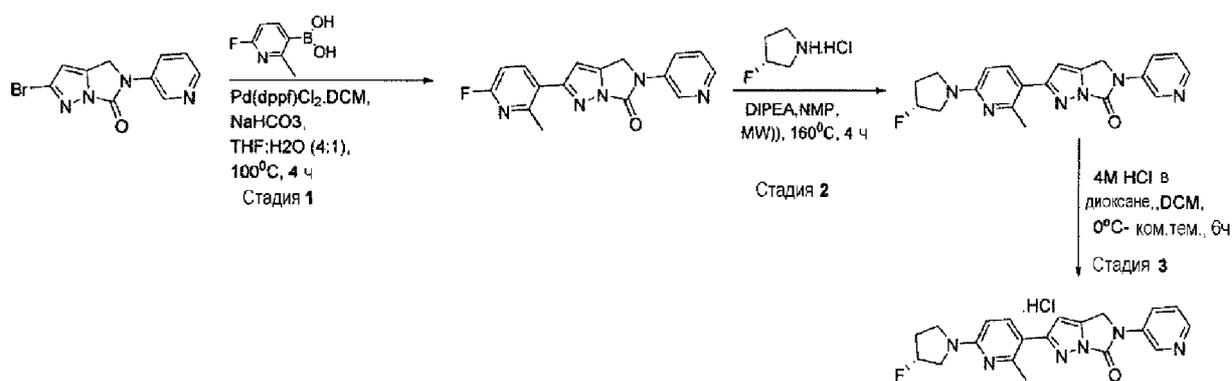
LCMS: 382,9 [M]⁺ ;

Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (20 мг, 0,05 ммоль) в 1,4-диоксане (0,6 мл, 30 об.) добавляли 4М HCl в 1,4-диоксане (0,1 мл, 5,0 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 7 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(5-фтор-6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде желтого твердого вещества (15 мг, 71%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-D₆) δ 9,11 (д, 1H), 8,60-8,50 (м, 2H), 8,45 (д, 1H), 7,95 (дд, 1H), 7,78 (дд, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,44 (д, 1H), 5,19 (с, 2H), 3,96-3,75 (м, 3H), 3,75-3,62 (м, 1H), 2,32-2,01 (м, 2H).

LCMS: 383,3 [M+H]⁺ ;

Пример 14



Стадия 1: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (450 мг, 1,6 ммоль), бороновую кислоту (500 мг, 3,2 ммоль), NaHCO₃ (675 мг, 8,0 ммоль) и THF:H₂O (4:1, 9,0 мл, 20 об.) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (130 мг, 0,16 ммоль) и смесь нагревали до 100°C в течение 4 ч. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали DCM три раза (30 мл х). Органический слой сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 2% MeOH в DCM с получением 2-(6-фтор-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде желтого твердого вещества (300 мг, 60%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,97 (д, 1H), 8,42 (д, 1H), 8,20 (д, 1H), 7,81 (д, 1H), 7,52 (дд, 1H), 6,77 (с, 1H), 6,45 (д, 1H), 5,45 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 3,89-3,38 (м, 4H), 2,60 (с, 3H), 2,36-2,04 (м, 2H).

LCMS: 310,9 [M+H]⁺

Стадия 2: 2-(6-фтор-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-

имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (80 мг, 0,16 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (82 мг, 0,32 ммоль), DIPEA (0,16 мл, 0,48 ммоль) и NMP (2 мл, 20 об.) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 4 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (10 мл). Неочищенную реакцию смесь фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде не совсем белого твердого вещества (70 мг, 71%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,98 (д, 1H), 8,43 (д, 1H), 8,20 (д, 1H), 7,81 (д, 1H), 7,52 (дд, 1H), 6,77 (с, 1H), 6,46 (д, 1H), 5,46 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 3,70 (м, 3H), 3,46 (м, 1H), 2,60 (с, 3H), 2,20 (м, 2H).

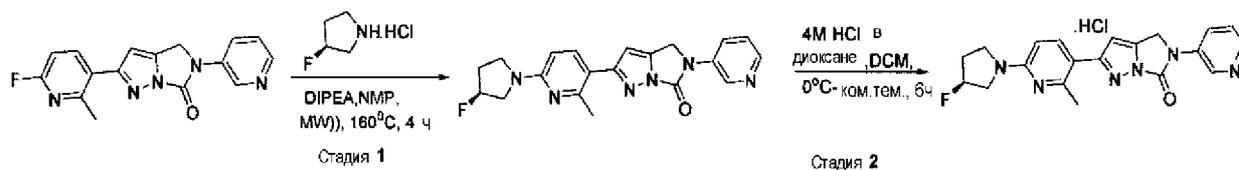
LCMS: 379,4 [M+H]⁺

Стадия 3: К перемешиваемому раствору (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (70 мг, 0,18 ммоль) в DCM (7 мл, 100 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,7 мл, 10 об) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (60 мг, 78%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*D*6) δ 9,12 (д, 1H), 8,58 (дд, 1H), 8,52-8,42 (м, 1H), 8,21 (д, 1H), 7,80 (дд, 1H), 7,03 (д, 1H), 6,96 (д, 1H), 5,69-5,43 (м, 1H), 5,24 (с, 2H), 4,11-3,64 (м, 4H), 2,83 (с, 3H), 2,44-2,12 (м, 2H).

LCMS: 379,4 [M+H]⁺

Пример 15



Стадия 1: 2-(6-фтор-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (80 мг, 0,26 ммоль), (*S*)-3-фторпирролидин хлороводород (66 мг, 0,52 ммоль), DIPEA (0,13 мл, 0,52 ммоль) и NMP (1,6 мл, 20 об.) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 4 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (10 мл). Неочищенную реакцию смесь фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-

имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде не совсем белого твердого вещества (80 мг, 81%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-D₆) δ 8,97 (д, 1H), 8,43 (дд, 1H), 8,20 (д, 1H), 7,81 (д, 1H), 7,52 (дд, 1H), 6,77 (с, 1H), 6,46 (д, 1H), 5,46 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 3,88-3,55 (м, 3H), 3,55-3,41 (м, 1H), 2,60 (с, 3H), 2,33-2,14 (м, 2H).

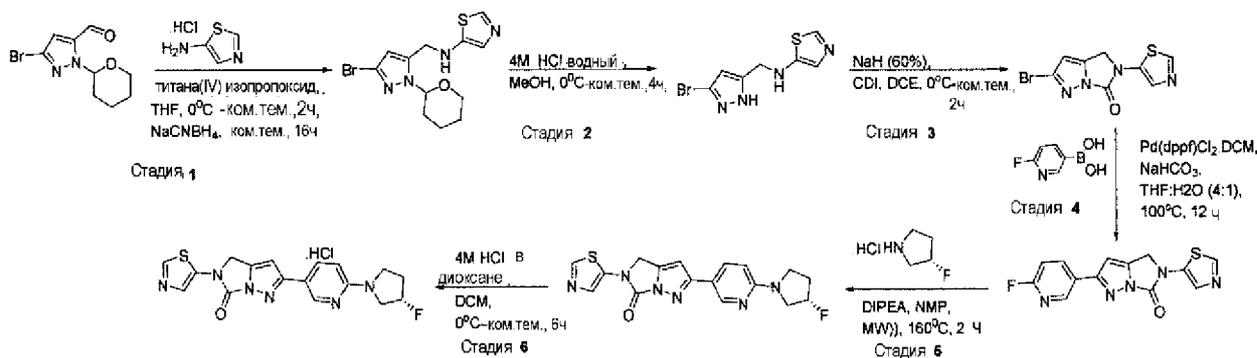
LCMS: 378,90 [M]⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (80 мг, 0,21 ммоль) в DCM (8 мл) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,8 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-5-(пиридин-3-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (80 мг, 91%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 9,15 (д, 1H), 8,61 (дд, 1H), 8,59-8,48 (м, 1H), 8,23 (д, 1H), 7,87 (дд, 1H), 7,05 (д, 1H), 6,97 (с, 1H), 5,58 (д, 1H), 5,25 (с, 2H), 4,15-3,79 (м, 3H), 3,79-3,63 (м, 1H), 2,85 (с, 3H), 2,48-2,11 (м, 2H).

LCMS: 378,85 [M]⁺ ;

Пример 16



Стадия 1: К перемешиваемому раствору 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (2,0 г, 7,7 ммоль) и тиазол-5-амина хлороводородной соли (3,1 г, 23,1 ммоль) в THF (120 мл) добавляли титана (IV) изопророксид (6,8 мл, 23,1 ммоль) в атмосфере N₂, и выдерживали в течение 2 ч. Затем добавляли цианоборгидрид натрия (0,72 г, 11,5 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. После завершения реакции растворитель удаляли в высоком вакууме. Реакционную смесь гасили насыщ. водн. NaHCO₃ (40 мл) и EtOAc (80 мл) добавляли при перемешивании. Полученный неорганический осадок фильтровали через слой целита. Собирали органический слой из фильтрата и водный слой экстрагировали EtOAc три раза (60 мл x3). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 3% MeOH в DCM, с получением N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амина в виде коричневого твердого вещества (1,5 г, 57%).

Стадия 2: К перемешиваемому раствору N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин (1,5 г, 4,3 ммоль) в MeOH (36 мл, 24 об.) добавляли водн. 4M HCl (15 мл, 10 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. После завершения реакции реакцию смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9. Растворитель удаляли в вакууме и продукт экстрагировали DCM три раза (50 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную массу промывали гексаном три раза (8 мл x3), сушили под вакуумом с получением N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин в виде желтого твердого вещества (1,0 г, 90%), непосредственно использовали для следующей стадии без дополнительной очистки. MS (ESI): 258,99 [M+H]⁺

Стадия 3: К охлажденному льдом раствору of N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин (1,0 г, 3,8 ммоль) в 1,2-DCE (15 мл) добавляли NaN (60% диспергированный в минеральном масле) (92 мг, 1,9 ммоль) в атмосфере N₂. Затем смесь оставляли до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем, CDI (6,2 г, 38,6 ммоль) добавляли в реакцию смесь и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили ледяной водой и продукт экстрагировали DCM три раза (40 мл x3). Экстракт сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 2% MeOH в DCM с получением 2-бром-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он в виде белого твердого вещества (800 мг, 72%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,82 (д, 1H), 7,79 (д, 1H), 6,74 (с, 1H), 5,10 (м, 2H).

MS (ESI): 284,94 [M+H]⁺

Стадия 4: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (400 мг, 1,4 ммоль), бороновую кислоту (395 мг, 2,8 ммоль), NaHCO₃ (590 мг, 7,0 ммоль) и (THF : H₂O) (4:1, 8,0 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (115 мг, 0,14 ммоль) и смесь нагревали до 100°C в течение 12 ч. После этого реакцию смесь гасили ледяной водой и экстрагировали DCM три раза (20 мл x3). Органический слой сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 2% MeOH в DCM с получением 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он в виде белого твердого вещества (130 мг, 30%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,84 (д, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,53 (м, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,34 (дд, 1H), 7,17 (с, 1H), 5,17 (с, 2H).

LCMS: 302,15 [M+H]⁺

Стадия 5: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (50 мг, 0,16 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (30 мг, 0,24 ммоль), DIPEA (0,08 мл, 0,49 ммоль) и NMP (0,5 мл, 10 об.) помещали в высушенный в

микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили ледяной водой (3 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (3 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6Н-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде белого твердого вещества (20 мг, 32%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-D₆) δ 7,97 (д, 1H), 7,85 (д, 1H), 7,23 (дд, 1H), 6,95 (д, 1H), 6,14 (д, 1H), 5,80 (д, 1H), 4,65 (д, 1H), 4,30 (с, 2H), 3,03-2,74 (м, 3H), 2,74-2,59 (м, 1H), 1,52-1,27 (м, 2H).

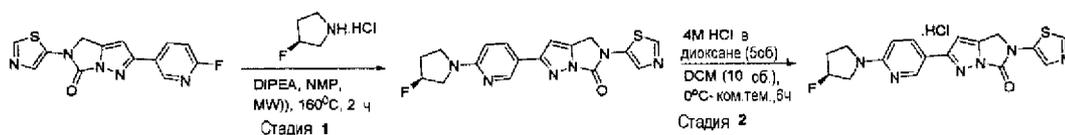
LCMS: 393,15 [M+Na]⁺

Стадия 6: К перемешиваемому раствору (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6Н-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (20 мг, 0,05 ммоль) в DCM (0,2 мл, 10 об.) добавляли 4М HCl в 1,4-диоксане (0,1 мл, 5,0 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6Н-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (18 мг, 85%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,81 (д, 1H), 8,54 (д, 1H), 8,47-8,29 (м, 1H), 7,80 (д, 1H), 7,22-6,95 (м, 2H), 5,55 (д, 1H), 5,15 (с, 2H), 4,01-3,77 (м, 4H), 2,35-2,04 (м, 2H).

LCMS: 371,15 [M+H]⁺

Пример 17



Стадия 1: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6Н-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (50 мг, 0,16 ммоль), (*S*)-3-фторпирролидин хлороводород (30 мг, 0,24 ммоль), DIPEA (0,08 мл, 0,49 ммоль) и NMP (0,5 мл) помещали в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 2 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (3 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (3 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6Н-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде белого твердого вещества (20 мг, 32%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,79 (д, 1H), 8,68 (д, 1H), 8,05 (дд, 1H), 7,77 (д, 1H), 6,96 (с, 1H), 6,62 (д, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,12 (с, 2H), 3,87-3,56 (м, 3H), 3,56-3,43 (м, 1H), 2,38-2,05 (м, 2H).

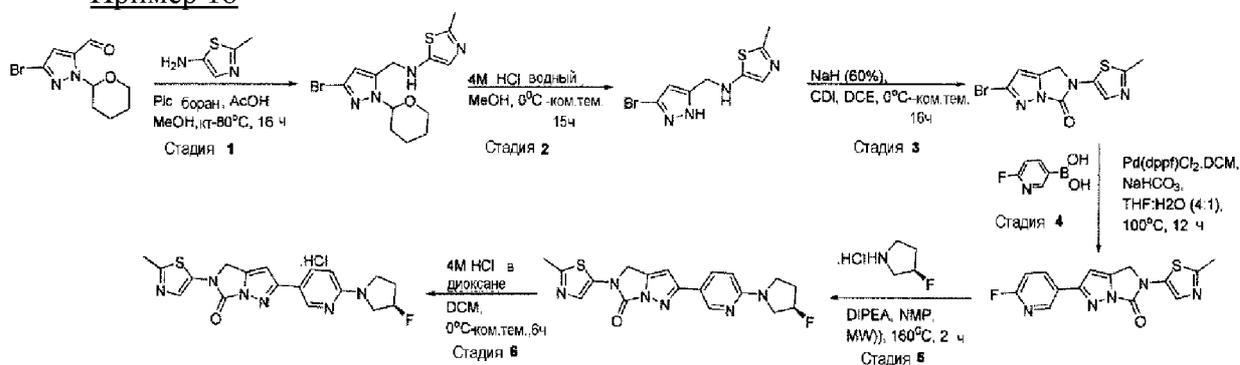
LCMS: 370,2 [M]⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (20 мг, 0,05 ммоль) в DCM (0,2 мл, 10 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,1 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (18 мг, 85%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,81 (с, 1H), 8,53 (д, 1H), 8,38 (д, 1H), 7,80 (с, 1H), 7,11 (д, 2H), 5,56 (д, 1H), 5,16 (с, 2H), 4,00-3,81 (м, 4H), 2,36-2,07 (м, 2H).

LCMS: 370,9 [M]⁺

Пример 18



Стадия 1: К раствору 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (1,0 г, 3,8 ммоль) и 2-метилтиазол-5-амин (0,43 г, 3,8 ммоль) в метаноле (40 мл) добавляли ледяную AcOH (0,02 мл, 0,38 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Затем смесь перемешивали в течение 15 мин. После этого добавляли PBr₃ боран и смесь кипятили с обратным холодильником при 80°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток гасили насыщ. водн. раствором NaHCO₃ при 0°C и продукт экстрагировали 10% MeOH в DCM три раза (50 мл x3). Экстракт сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на подщелачиваемом силикагеле (230-400 меш), элюируя 80% EtOAc в гексане с получением N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-2-метилтиазол-5-амин в виде коричневатой жидкости (0,54 г, 39%).

Стадия 2: К перемешиваемому раствору N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-2-метилтиазол-5-амин (0,54 г, 1,51 ммоль) в MeOH (13 мл) добавляли водн. 4M HCl (3,2 мл, 15,1 ммоль) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9, и продукт экстрагировали 10% MeOH в DCM три раза (25 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом с получением N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)-2-метилтиазол-5-амин в виде желтого

твёрдого вещества (0,26 г, 63%), непосредственно использовали для следующей стадии без дополнительной очистки. MS (ESI): 275,00 [M+H]⁺.

Стадия 3: К охлажденному льдом раствору N-((3-бром-1H-пиразол-5-ил)метил)-2-метилтиазол-5-амин (260 мг, 0,95 ммоль) в 1,2-DCE (3,9 мл) добавляли NaN (60% диспергированный в минеральном масле) (19 мг, 0,47 ммоль) в атмосфере N₂. Затем смесь перемешивали в течение 10 мин. Добавляли CDI (1,5 г, 9,5 ммоль) в реакционную смесь, температуру доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. После завершения реакции неочищенную смесь гасили ледяной водой и продукт экстрагировали DCM три раза (10 мл x3). Экстракт сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-бром-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде светло-коричневатого твёрдого вещества (135 мг, 47%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 7,5 (с, 1H), 6,73 (с, 1H), 5,04 (с, 2H), 2,61 (с, 3H).

LCMS: 300,65 [M+H]⁺

Стадия 4: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (100 мг, 0,33 ммоль), (6-фторпиридин-3-ил)бороновую кислоту (70 мг, 0,5 ммоль), NaHCO₃ (140 мг, 1,6 ммоль) и 1,4-диоксан (3,0 мл, 30 об.) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (27 мг, 0,03 ммоль) и снова дегазировали в течение 10 мин. Смесь нагревали до 100°C в течение 18 ч. Расход реагентов осуществлялся под контролем TLC. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали EtOAc три раза (10 мл x3). Органический слой сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (230-400 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде светло-коричневого твёрдого вещества (38 мг, 36%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,83 (д, 1H), 8,52 (тд, 1H), 7,52 (с, 1H), 7,34 (дд, 1H), 7,15 (с, 1H), 5,11 (с, 2H), 2,63 (с, 3H).

LCMS: 316,2 [M+H]⁺

Стадия 5: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (30 мг, 0,09 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (17 мг, 0,14 ммоль), DIPEA (0,04 мл, 0,28 ммоль) и NMP (0,6 мл, 20 об.) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 2 ч. Неочищенную смесь гасили ледяной водой (5 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде не совсем белого твёрдого вещества (20 мг, 55%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*D*₆) δ 8,67 (д, 1H), 8,04 (дд, 1H), 7,48 (с, 1H), 6,94 (с, 1H),

6,62 (д, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,07 (с, 2H), 3,87-3,64 (м, 3H), 3,55-3,42 (м, 2H), 2,62 (с, 3H), 2,33-2,10 (м, 2H).

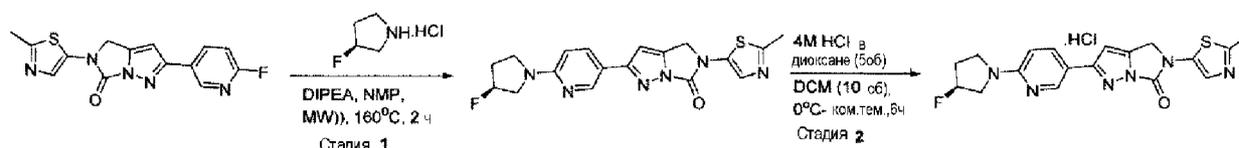
LCMS: 384,8 [MH]⁺ ;

Стадия 6: К перемешиваемому раствору (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (20 мг, 0,052 ммоль) в DCM (1,0 мл, 50 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,1 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде коричневого твердого вещества (16 мг, 76%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*D*₆) δ 8,52 (с, 1H), 8,38 (с, 1H), 7,52 (с, 1H), 7,16-7,00 (м, 2H), 5,56 (д, 1H), 5,10 (с, 2H), 3,94-3,59 (м, 4H), 2,62 (с, 3H), 2,41-2,15 (м, 2H).

LCMS: 385,2 [M+H]⁺

Пример 19



Стадия 1: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (40 мг, 0,12 ммоль), (*S*)-3-фторпирролидин хлороводород (23 мг, 0,19 ммоль), DIPEA (0,06 мл, 0,38 ммоль) и NMP (0,8 мл) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили ледяной водой (5 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера и полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она в виде коричневого твердого вещества (16 мг, 33%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*D*₆) δ 8,67 (с, 1H), 8,05 (д, 1H), 7,48 (с, 1H), 6,95 (с, 1H), 6,62 (д, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,07 (с, 2H), 3,91-3,56 (м, 3H), 3,51-3,42 (м, 1H), 2,61 (с, 3H), 2,32-2,04 (м, 2H).

LCMS: 384,7 [M+H]⁺

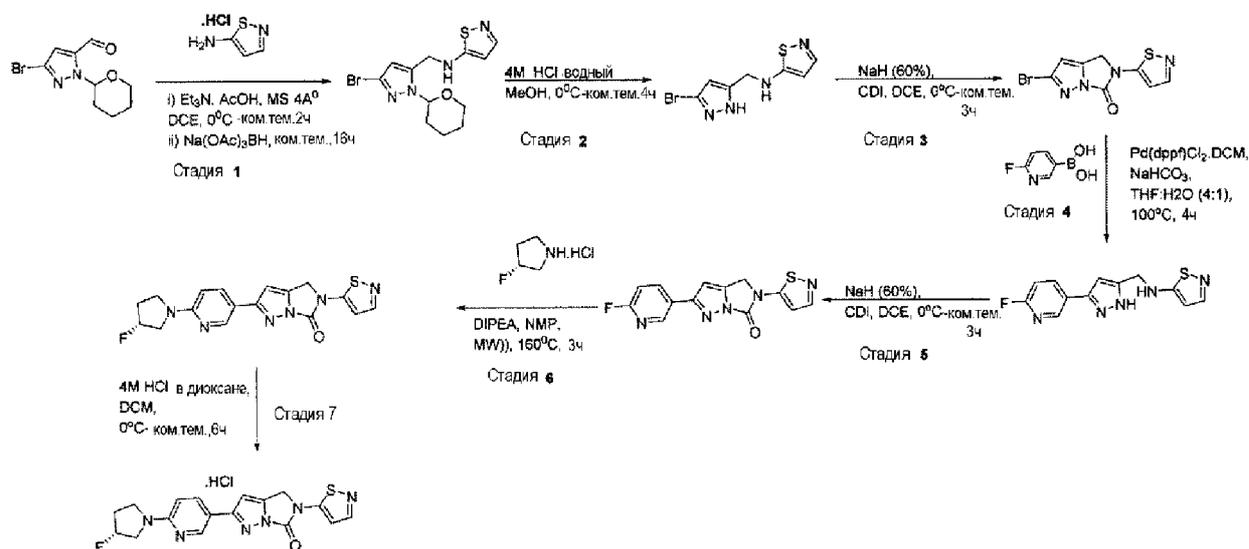
Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (16 мг, 0,041 ммоль) в DCM (0,8 мл, 50 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,08 мл, 5,0 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(2-

метилтиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде коричневого твердого вещества (14 мг, 82%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- D_6) δ 8,51 (д, 1H), 8,40 (д, 1H), 7,52 (с, 1H), 7,20-7,01 (м, 2H), 5,56 (д, 1H), 5,10 (с, 2H), 3,73-3,42 (м, 4H), 2,62 (с, 3H), 2,42-2,10 (м, 2H).

LCMS: 385,15 [M+H] $^+$

Пример 20



Стадия 1: К перемешиваемому раствору 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (1,5 г, 5,8 ммоль) и изотиазол-5-амин хлороводородной соли (1,0 г, 7,5 ммоль) в 1,2-дихлорэтано (60 мл) добавляли триэтиламин (1,0 мл, 7,5 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К этому добавляли молекулярные сита 4A $^\circ$ и ледяную АсОН (6,0 мл) в атмосфере N_2 , и выдерживали в течение 2 ч. Затем, добавляли натрия триацетоксиборгидрид (3,7 г, 17,3 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. За ходом реакции следили с помощью TLC. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO_3 (30 мл) и продукт экстрагировали 5% MeOH в DCM три раза (60 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 50% EtOAc в гексане, с получением N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин в виде желтого твердого вещества (1,4 г, 70%). MS (ESI) 344,89 [M+H] $^+$.

Стадия 2: К перемешиваемому раствору N-((3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин (1,4 г, 4,1 ммоль) в MeOH (42 мл, 30 об.) добавляли водн.4M HCl (10,2 мл) при 0°C в атмосфере N_2 и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Время реакции контролировали с помощью TLC. После завершения реакцию смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором NaHCO_3 до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9. Растворитель удаляли в вакууме и продукт экстрагировали DCM три раза (50 мл x3). Объединенный

органический слой сушили над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом. Полученную массу промывали гексаном три раза (8 мл x3), сушили под вакуумом с получением *N*-((3-бром-1*H*-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин в виде желтого твердого вещества (700 мг, 66%), непосредственно использовали для следующей стадии без дополнительной очистки. MS (ESI): 260,97 [M+H]⁺.

Стадия 3: К охлажденному льдом раствору *N*-((3-бром-1*H*-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин (700 мг, 2,7 ммоль) в 1,2-DCE (11 мл) добавляли NaH (60% диспергированный в минеральном масле) (54 мг, 1,3 ммоль) в атмосфере N_2 . Затем смесь оставляли до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем, CDI (4,38 г, 27 ммоль) добавляли к реакционной смеси и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой (3 мл). Неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением 2-бром-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6*H*-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он в виде коричневого твердого вещества (500 мг, 65%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,38 (д, 1H), 7,16 (д, 1H), 6,77 (д, 1H), 5,11 (д, 2H).

MS (ESI): 286,98 [M+H]⁺

Стадия 4: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 2-бром-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6*H*-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он (100 мг, 0,35 ммоль), бороновую кислоту (100 мг, 0,7 ммоль), NaHCO_3 (147 мг, 1,7 ммоль) и диоксан:H₂O (4:1, 4 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (57 мг, 0,07 ммоль) и смесь нагревали до 100°C в течение 4 ч. Расход реагентов осуществлялся под контролем TLC. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали в 5% MeOH в DCM три раза (10 мл x3). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 5% MeOH в DCM с получением *N*-((3-(6-фторпиридин-3-ил)-1*H*-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин в виде коричневатой жидкости (70 мг, 73%). MS (ESI): 276,11 [M+H]⁺.

Стадия 5: К охлажденному льдом раствору *N*-((3-(6-фторпиридин-3-ил)-1*H*-пиразол-5-ил)метил)изотиазол-5-амин (70 мг, 0,25 ммоль) в 1,2-DCE (1,0 мл) добавляли NaH (60% диспергированный в минеральном масле) (5,0 мг, 0,13 ммоль) в атмосфере N_2 . Затем смесь оставляли до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем, CDI (405 мг, 2,5 ммоль) добавляли в реакционную смесь и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. После завершения реакцию смесь гасили ледяной водой и неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6*H*-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он в виде коричневого твердого вещества (40 мг, 53%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*6) δ 8,85 (д, 1H), 8,54 (м, 1H), 8,40 (д, 1H), 7,35 (дд, 1H), 7,18 (м, 2H), 5,18 (с, 2H).

LCMS: 301,80 [M]+

Стадия 6: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (40 мг, 0,13 ммоль), (*R*)-3-фторпирролидин хлороводород (25 мг, 0,20 ммоль), DIPEA (0,07 мл, 0,39 ммоль) и NMP (0,5 мл) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали под воздействием микроволнового излучения при 160°C в течение 3 ч. После завершения реакции, неочищенную смесь гасили ледяной водой и неочищенную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде коричневого твердого вещества (17 мг, 35%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-D₆) δ 8,69 (дд, 1H), 8,38 (д, 1H), 8,06 (дд, 1H), 7,13 (д, 1H), 6,99 (с, 1H), 6,62 (дд, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,14 (с, 2H), 3,86-3,58 (м, 3H), 3,54-3,42 (м, 1H), 2,33-2,08 (м, 2H).

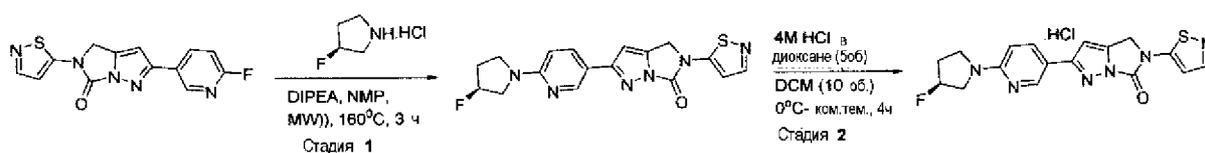
LCMS: 371,10 [M+H]+

Стадия 7: К перемешиваемому раствору (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она (17 мг, 0,045 ммоль) в DCM (1,0 мл, 50 об.) добавляли 4М HCl в 1,4-диоксане (0,17 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Затем, растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*R*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде коричневого твердого вещества (15 мг, 82%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,57 (д, 1H), 8,39 (д, 1H), 8,32 (д, 1H), 7,22-7,06 (м, 2H), 6,99 (с, 1H), 5,54 (д, 1H), 5,16 (д, 2H), 3,96-3,41 (м, 4H), 2,40-2,09 (м, 2H).

LCMS: 371,20 [M+H]+

Пример 21



Стадия 1: 2-(6-фторпиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (50 мг, 0,17 ммоль), (*S*)-3-фторпирролидин хлороводород (33 мг, 0,26 ммоль), DIPEA (0,09 мл, 0,51 ммоль) и NMP (0,5 мл) вводили в высушенный в микроволновой печи флакон в атмосфере аргона. Реакционную смесь нагревали при 160°C в течение 3 ч. Затем реакционную смесь гасили ледяной водой и неочищенную реакционную массу фильтровали через воронку Бюхнера. Полученную массу промывали гексаном три раза (3 мл x3), сушили в высоком вакууме с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде коричневого твердого вещества (25 мг, 40%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-D6) δ 8,69 (дд, 1H), 8,38 (д, 1H), 8,06 (дд, 1H), 7,13 (д, 1H), 7,00 (д, 1H), 6,62 (дд, 1H), 5,47 (д, 1H), 5,14 (с, 2H), 3,88-3,55 (м, 3H), 3,48 (тд, 1H), 2,33-2,08 (м, 2H).

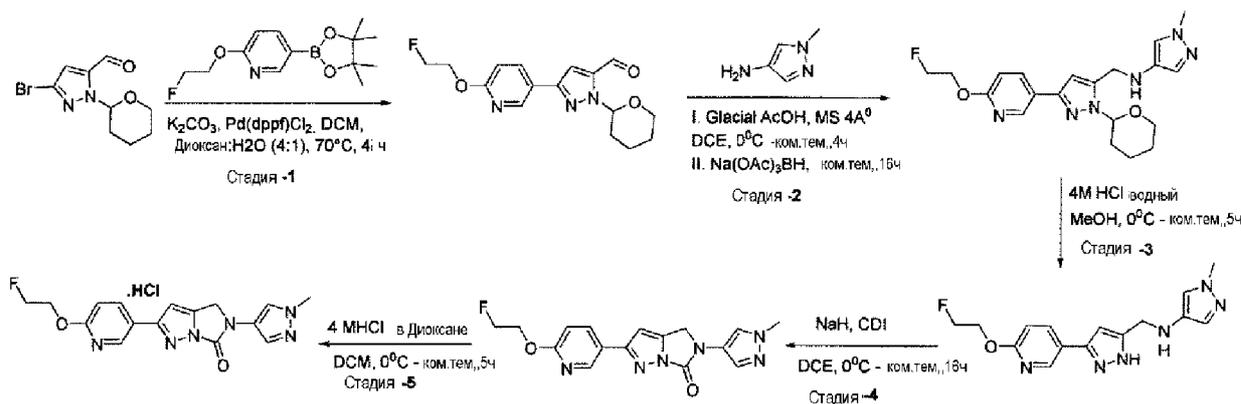
LCMS: 371,00 [M+H]⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-она (25 мг, 0,07 ммоль) в DCM (1,3 мл, 50 об.) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,25 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением (*S*)-2-(6-(3-фторпирролидин-1-ил)пиридин-3-ил)-5-(изотиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-*b*]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде коричневого твердого вещества (26 мг, 93%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-D6) δ 8,56 (д, 1H), 8,48-8,29 (м, 2H), 7,25-7,11 (м, 2H), 7,04 (с, 1H), 5,55 (д, 1H), 5,17 (с, 2H), 3,96-3,59 (м, 4H), 2,39-2,14 (м, 2H).

LCMS: 371,15 [M+H]⁺

Пример 22



Стадия 1: В высушенный в печи флакон с завинчивающейся крышкой добавляли 3-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегид (2,0 г, 7,7 ммоль), бороновый эфир (4,12 г, 15,4 ммоль), K₂CO₃ (2,13 г, 11,5 ммоль) и диоксан:H₂O (4:1, 50 мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 15 мин. Затем добавляли Pd(dppf)Cl₂.DCM (630 мг, 0,77 ммоль) и смесь нагревали до 70°C в течение 4 ч. После этого реакционную смесь гасили ледяной водой и экстрагировали EtOAc три раза (60 мл x3). Органический слой сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 25% EtOAc в гексане с получением 3-(6-(2-фторэтоксипиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида в виде не совсем белого твердого вещества (2,0 г, 81%).

^1H ЯМР (CDCl₃) δ 9,99 (с, 1H), 8,56 (дд, 1H), 8,10 (дд, 1H), 7,17 (с, 1H), 6,86 (м, 1H), 6,14 (дд, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,71 (м, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,58 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 3,76 (м, 1H), 2,51 (м, 1H), 2,11 (м, 2H), 1,71 (м, 4H), 1,34 (м, 1H), 1,24 (с, 2H).

MS (ESI): 320,24 (M+H)⁺

Стадия 2: К перемешиваемому раствору 3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (800 мг, 2,5 ммоль) и 1-метил-1H-пиразол-4-амин (320 мг, 3,2 ммоль) в 1,2-дихлорэтано (32 мл) добавляли молекулярные сита 4А° и ледяную АсОН (2,4 мл) в атмосфере N₂, и выдерживали в течение 4 ч. Затем, добавляли натрия триацетоксиборгидрид (1,1 г, 5,0 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (80 мл) и продукт экстрагировали DCM (80 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-амин в виде коричневой жидкости (650 мг, 65%). ¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 8,48 (дд, 1H), 8,04 (дд, 1H), 7,08 (д, 1H), 6,96 (д, 1H), 6,87 (дд, 1H), 6,66 (с, 1H), 5,49 (дд, 1H), 4,83 (с, 1H), 4,78 (т, 1H), 4,66 (м, 1H), 4,52 (м, 1H), 4,45 (м, 1H), 4,09 (дд, 2H), 3,87 (д, 1H), 3,64 (с, 3H), 3,60 (м, 1H), 2,30 (м, 1H), 1,99 (м, 1H), 1,87 (м, 1H), 1,63 (дт, 1H), 1,52 (м, 2H), 1,24 (м, 1H).

Стадия 3: К перемешиваемому раствору N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-амин (650 мг, 1,6 ммоль) в MeOH (16 мл) добавляли водн.4M HCl (6,5 мл, 10 об) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем, реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9. Растворитель удаляли в вакууме и продукт экстрагировали EtOAc три раза (80 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили под вакуумом с получением N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-амин в виде желтого твердого вещества (400 мг, 80%).

¹H ЯМР (DMSO-*d*₆) δ 12,90 (м, 1H), 8,53 (д, 1H), 8,06 (м, 1H), 7,08 (с, 1H), 6,97 (с, 1H), 6,92 (м, 1H), 6,61 (с, 1H), 4,83 (м, 2H), 4,70 (т, 1H), 4,56 (т, 1H), 4,48 (т, 1H), 4,02 (м, 2H), 3,67 (с, 3H).

MS (ESI): 317,18 (M+H)⁺

Стадия 4: К охлажденному льдом раствору N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)-1-метил-1H-пиразол-4-амин (250 мг, 0,79 ммоль) в 1,2-DCE (15 мл) добавляли NaNH (60% диспергированный в минеральном масле) (17 мг, 0,4 ммоль) в атмосфере N₂. Затем смеси давали нагреться до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем CDI (1,2 г, 7,9 ммоль) добавляли в реакционную смесь и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили ледяной водой и продукт экстрагировали 5% MeOH в DCM три раза (20 мл x3). Экстракт сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-(6-(2-

фторэтоксипиридин-3-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она в виде белого твердого вещества (170 мг, 63%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-D₆) δ 8,73 (д, 1H), 8,24 (дд, 1H), 8,03 (с, 1H), 7,67 (с, 1H), 7,08-6,91 (м, 2H), 4,95 (с, 2H), 4,87-4,67 (м, 2H), 4,66-4,50 (м, 2H), 3,87 (с, 3H).

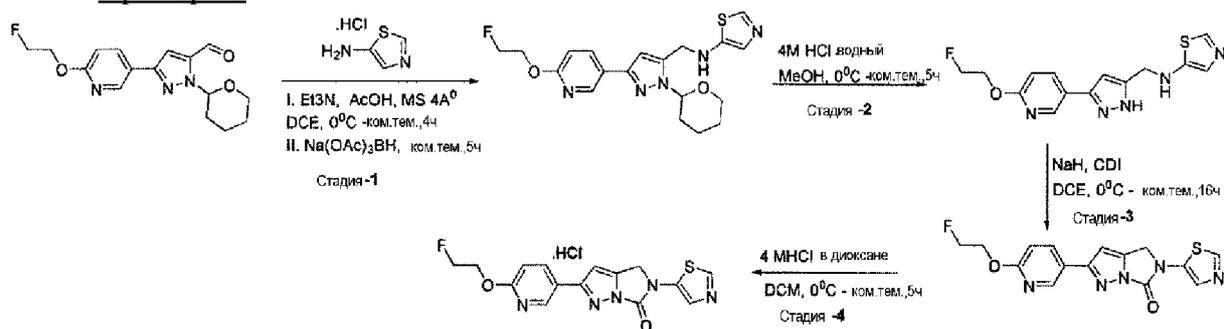
LCMS: 342,8 (M)+

Стадия 5: К перемешиваемому раствору 2-(6-(2-фторэтоксипиридин-3-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-она (80 мг, 0,23 ммоль) в DCM (4 мл) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,8 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. После завершения реакции растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением 2-(6-(2-фторэтоксипиридин-3-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (80 мг, 91%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,73 (дд, 1H), 8,25 (дд, 1H), 8,04 (д, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,05-6,94 (м, 2H), 4,96 (д, 2H), 4,89-4,66 (м, 2H), 4,66-4,44 (м, 2H), 3,87 (с, 3H).

LCMS: 342,8 (M+H)+

Пример 23



Стадия 1: К перемешиваемому раствору (3-(6-(2-фторэтоксипиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-карбальдегида (0,8 мг, 2,5 ммоль) и тиазол-5-амин хлороводородной соли (0,445 г, 3,26 ммоль) в 1,2-дихлорэтане (32 мл) добавляли триэтиламин (0,45 мл, 3,26 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. К этому добавляли молекулярные сита 4A^o и ледяную AcOH (3,2 мл) в атмосфере N₂, и выдерживали в течение 4 ч. Затем, добавляли натрия триацетоксиборгидрид (1,06 г, 5,02 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. За ходом реакции следили с помощью TLC. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ (50 мл) и продукт экстрагировали DCM три раза (60 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную неочищенную массу очищали колоночной хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением N-((3-(6-(2-фторэтоксипиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин в виде коричневой жидкости (0,6 г, 59%).

^1H ЯМР (DMSO-d₆) δ 8,48 (дд, 1H), 8,15 (с, 1H), 8,08 (м, 1H), 6,94 (с, 1H), 6,88 (дд, 1H), 6,79 (кв, 1H), 6,75 (с, 1H), 5,76 (с, 2H), 5,53 (м, 1H), 4,80 (т, 1H), 4,71 (т, 1H), 4,55 (т,

1H), 4,49 (т, 1H), 4,36 (м, 2H), 3,90 (д, 1H), 3,66 (тд, 1H), 2,32 (м, 1H), 1,96 (м, 3H), 1,66 (м, 1H), 1,59 (с, 3H).

MS (ESI): 402,20 (M-H)+

Стадия 2: К перемешиваемому раствору N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин (200 мг, 0,5 ммоль) в MeOH (6 мл, 30 об.) добавляли водн.4M HCl (1,3 мл, 10 об.) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Время реакции контролировали с помощью TLC. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным водным раствором NaHCO₃ до тех пор, пока pH полученной смеси не достигнет 8-9. Растворитель удаляли в вакууме и продукт экстрагировали EtOAc три раза (50 мл x3). Объединенный органический слой сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Полученную массу промывали гексаном три раза (5 мл x3), сушили под вакуумом с получением N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин в виде коричневого твердого вещества (100 мг, 63%). MS (ESI): 320,08 (M+H)+

Стадия 3: К охлажденному льдом раствору N-((3-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-1H-пиразол-5-ил)метил)тиазол-5-амин (100 мг, 0,3 ммоль) в 1,2-DCE (6 мл) добавляли NaNH (60% диспергированный в минеральном масле) (6,0 мг, 0,16 ммоль) в атмосфере N₂. Затем смесь оставляли до комнатной температуры и выдерживали в течение 30 мин. Затем, CDI (500 мг, 3,1 ммоль) добавляли в реакционную смесь и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. После завершения реакционную смесь гасили ледяной водой и продукт экстрагировали 5% MeOH в DCM три раза (30 мл x3). Экстракт сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (100-200 меш), элюируя 3% MeOH в DCM с получением 2-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он в виде белого твердого вещества (40 мг, 36%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,81 (д, 1H), 8,75 (дд, 1H), 8,27 (дд, 1H), 7,79 (д, 1H), 7,08 (с, 1H), 7,01 (дд, 1H), 5,15 (с, 2H), 4,89-4,67 (м, 2H), 4,67-4,47 (м, 2H).

LCMS: 345,9 (M)+

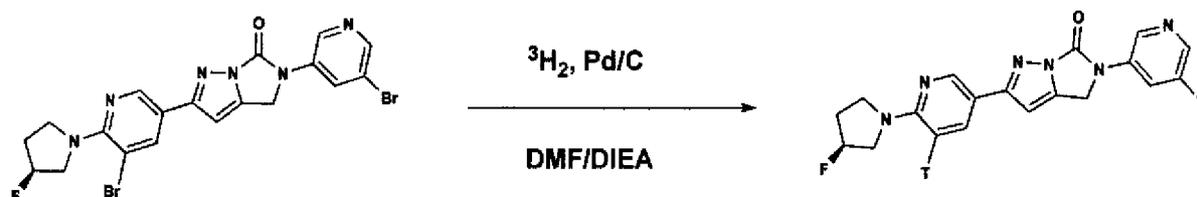
Стадия 4: К перемешиваемому раствору 2-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он (40 мг, 0,12 ммоль) в DCM (2,4 мл) добавляли 4M HCl в 1,4-диоксане (0,4 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем растворитель выпаривали, промывали пентаном, сушили под вакуумом с получением 2-(6-(2-фторэтокси)пиридин-3-ил)-5-(тиазол-5-ил)-4,5-дигидро-6H-имидазо[1,5-b]пиразол-6-он хлороводородной соли в виде белого твердого вещества (43 мг, 98%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆) δ 8,81 (д, 1H), 8,75 (дд, 1H), 8,27 (дд, 1H), 7,80 (д, 1H), 7,08 (с, 1H), 7,01 (дд, 1H), 5,15 (с, 2H), 4,89-4,69 (м, 2H), 4,65-4,48 (м, 2H).

LCMS: 345,7 (M)+

Радиолигандный синтез

Пример-1 [³H-1]



Предшественник 1 (0,5 мг) растворяли в диметилформамиде (DMF) (0,3 мл) и N, N-диизопропилэтиламинт (DIEA) (5 мкл) в тритиевом реакционном сосуде. Добавляли 10% Pd/C (0,5 мг) и сосуд герметизировали до 0,5 атм газообразным тритием при -200°C . Раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, охлаждали до -200°C и удаляли избыток газа. Реакционную колбу промывали 4 x 1 мл CH_3OH , пропуская каждую промывочную жидкость CH_3OH через слой целит. Объединенный метанол удаляли в вакууме. Материал очищали с помощью ВЭЖХ. Подвижную фазу удаляли и продукт повторно растворяли в абсолютном этаноле. (10 мКи с радиохимической чистотой $>99\%$ и удельной активностью 54,8 Ки/ммоль). T означает тритий (^3H). MS (ESI): $m/z=369$ (100%) $[\text{M}+\text{H}]^+$

ОПИСАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Получение агрегатов альфа-синуклеина (α -syn) головного мозга человека при болезни Паркинсона (PD)

Процедура была адаптирована на основе протокола, описанного в Spillantini et al., 1998. Блоки замороженных тканей от доноров с PD размораживали на льду и гомогенизировали с помощью стеклянного гомогенизатора Даунса. Затем гомогенат центрифугировали при $11000 \times g$ (12700 об/мин) в ультрацентрифуге (Beckman, XL100K) в течение 20 минут при 4°C с использованием предварительно охлажденного ротора 70.1 (Beckman, 342184). Осадки ресуспендировали в буфере для экстракции [10 mM Tris-HCl pH 7,4, 10% сахарозы, 0,85 mM NaCl, 1% ингибитора протеазы (Calbiochem 539131), 1 mM EGTA, 1% ингибитора фосфатазы (Sigma P5726 и P0044)] и центрифугировали при $15000 \times g$ (14800 об/мин, 70.1 Ti ротор) в течение 20 минут при 4°C . Осадки отбрасывали и добавляли саркозил (20% исходный раствор, Sigma L7414) к супернатантам до конечной концентрации 1% при комнатной температуре в течение одного часа. Затем этот раствор центрифугировали при $100000 \times g$ (38000 об/мин, 70.1 Ti ротор) в течение одного часа при 4°C . Осадки, содержащие обогащенные агрегаты альфа-синуклеина, ресуспендировали в PBS и хранили при -80°C до использования.

2. Анализ конкурентного микрорадиосвязывания для определения аффинности связывания

Агрегаты альфа-синуклеина, полученные из головного мозга при PD, наносили на предметные стекла для микрочипов. Предметные стекла инкубировали с эталонным [^3H]-альфа-синуклеином при 6 нМ или 20 нМ и примерами соединений (радиоактивно немеченых) при 1 мкМ и 100 нМ. В некоторых случаях радиоактивно немеченые примеры соединений подвергали дальнейшей оценке в диапазоне различных концентраций,

варьирующихся от 0,05 нМ до 2 мкМ. После инкубации предметные стекла промывали и сканировали с помощью системы ауторадиографии в реальном времени (BeaQuant, ai4R). Количественную оценку сигнала проводили с использованием программного обеспечения для анализа изображений Beamage (ai4R). Неспецифический сигнал определяли с избытком радиоактивно немеченого примера 1 (2 мкМ) и специфическое связывание рассчитывали путем вычитания неспецифического сигнала из общего сигнала. Конкуренцию рассчитывали в процентах, где 0% определяли как специфическое связывание в присутствии носителя, а 100% как значения, полученные в присутствии избытка радиоактивно немеченого примера-1. Значения K_i рассчитывали в GraphPad Prism7 путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом. Все измерения проводили по меньшей мере в двух технических повторах. Для соединений, протестированных в более чем одном эксперименте, указывают среднее значение повторов или значений K_i в независимых экспериментах.

Результаты: Примеры соединений оценивали на предмет их способности конкурировать со связыванием [^3H]-эталонного лиганда альфа-синуклеина с агрегатами альфа-синуклеина, полученными из головного мозга пациента с PD. Результаты анализа конкурентного микрорадиосвязывания для исследуемых соединений примеров показаны в таблице 3 как: % конкуренции при 1 мкМ и 100 нМ. В таблице 3 также показаны значения K_i .

Таблица 3

Соединение примера по.	Анализ конкурентного микрорадиосвязывания		
	Конкуренция при 1 мкМ (%)	Конкуренция при 100 нМ (%)	K_i (нМ)
1	91	56	69
2	97	87	*46
3	89	74	
4	100	94	
5	89	59	26
6	93	43	
7	96	73	
8	73	27	64
9	62	45	
10	100	72	
11	76	25	252
12	90	76	34

13	71	55	101
14	85	56	80
15	80	48	141
16	98	79	
17	95	66	
18	83	51	51
19	78	41	65
20	87	85	
21	90	82	
22	89	45	
23	82	31	

Таблица 3: Оценка аффинности связывания с помощью анализа конкурентного микрорадиосвязывания на агрегатах альфа-синуклеина человека, полученных из головного мозга при PD. Процент (%) конкуренции за тритированный лиганд [³H]-Пример-1 в присутствии 1 мкМ и 100 нМ соединений примеров 1-9. Значения K_i также показаны для выбранных примеров соединений. *, среднее значение K_i в двух независимых экспериментах с использованием гомогенатов головного мозга от двух разных доноров при PD. Как показано в таблице 3, примеры соединений 1-9 по настоящему изобретению демонстрируют высокое связывание с агрегатами альфа-синуклеина, полученными из головного мозга при PD.

3. Оценка целевого воздействия при альфа-синуклеинопатиях и в тканях AD

3А: С помощью микроавторадиографии высокого разрешения

Протокол был адаптирован из Marquie et al., 2015. Срезы инкубировали с тритиевым соединением примера 1 ([³H]-Пример-1) при 10 нМ или 20 нМ или эталонным тау-лигандом ([³H]-Tau-Ref при 20 нМ в течение одного часа при комнатной температуре (ком.тем.). Затем срезы промывали следующим образом: один раз в ледяном 50 мМ Tris-HCl буфере pH 7,4 в течение одной минуты, два раза в 70% ледяном этаноле в течение одной минуты, один раз в ледяном 50 мМ Tris-HCl буфере pH 7,4 в течение одной минуты и, в конце, быстро промывали ледяной дистиллированной водой. После этого срезы сушили и затем подвергали воздействию ядерной эмульсии Ilford типа K5 (Agar Scientific, AGP9281) в светонепроницаемом ящике для хранения предметных стекол. Через пять дней срезы проявляли путем последовательного погружения их в следующие растворы: 1.) Ilford Phenisol Developer (1:5 (разведение в H₂O, Agar Scientific, AGP9106), 2.) раствор Ilfostop (1:20 (разведение в H₂O, Agar Scientific, AGP9104), 3.) Ilford Nupam Fixer (1:5 (разведение в H₂O, Agar Scientific, AGP9183) и, в конце, промывали H₂O.

При наличии показаний на том же срезе также проводили иммуноокрашивание. Для получения изображений срезы приготавливали с использованием реагента ProLong Gold Antifade (Invitrogen P36930) и получали изображения на сканере слайдов Panoramic150

Slide Scanner (3DHitech) с объективом 20x, позволяющим получать отдельно светлопольные и флуоресцентные изображения.

3В. Путем окрашивания срезов с использованием антител

Срезы головного мозга подвергали иммуноокрашиванию с использованием коммерчески доступных антител, специфичных к фосфорилированному серину по аминокислоте 129 альфа-синуклеина (a-syn-pS129, кроличье моноклональное, Abcam 51253). Срезы фиксировали в течение 15 минут при 4°C с помощью 4% формальдегида (Sigma, 252549) и трижды промывали в течение пяти минут 1x PBS (забуференный фосфатом Дульбекко физиологический раствор, Sigma D1408) при комнатной температуре. Затем срезы насыщали и пермеабелизовали в блокирующем буфере (PBS, 10% NGS, 0,25% Triton X-100) в течение одного часа при комнатной температуре и инкубировали в течение ночи при 4°C с первичным антителом, соответствующим a-syn-pS129 (в PBS, 5% NGS, 0,25% Triton X-100). На следующий день срезы промывали три раза в течение пяти минут 1x PBS перед инкубацией со вторичным, AlexaFluor647-меченым козьим анти-кроличьим антителом (Abcam, ab150079) в течение 45 минут при комнатной температуре. После инкубации со вторичными антителами срезы трижды промывали PBS перед дальнейшей обработкой. Для получения изображений срезы приготавливали с использованием реагента ProLong Gold Antifade (Invitrogen P36930) и получали изображения с помощью сканера слайдов Panoramic150 (3DHitech; Hungary).

Результаты: Микроауторадиографию высокого разрешения с [³H]-Примером-1 проводили на замороженных срезах головного мозга человека из различных случаев альфа-синуклеинопатии. Сильный ауторадиографический сигнал от [³H]-Примера-1 был обнаружен в виде накопления зерен серебра (фиг. 1 внизу) и локализован вместе с иммунофлуоресцентным сигналом от антитела a-syn-pS129 (фиг. 1 вверху), что указывает на сильное целевое воздействие на тельца Леви и нейриты Леви, а также агрегаты альфа-синуклеина очень малого размера при PD и других альфа-синуклеинопатиях, включая множественную системную атрофию (MSA), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBV) и деменцию при болезни Паркинсона (PDD).

4. Оценка специфического связывания в срезах головного мозга от доноров с PD, PDD, MSA, LBV и контрольных доноров без деменции (NDC) с помощью ауторадиографии

Замороженные срезы головного мозга человека из одного семейного случая PD (миссенс-мутация G51D гена альфа-синуклеина [SNCA]), помеченного как SNCA (G51D), одного случая PDD, одного случая MSA, одного случая LBV и двух контрольных случаев без деменции (NDC) сначала быстро фиксировали в течение 15 минут при 4°C 4% параформальдегидом (Sigma, 252549) и промывали три раза в течение пяти минут PBS (забуференный фосфатом Дульбекко физиологический раствор, Sigma) при комнатной температуре. Перед использованием в эксперименте все предметные стекла уравнивали в течение 20 минут в 50 mM Tris-HCl pH 7,4 буфере. Каждый срез головного мозга инкубировали с фиксированной концентрацией (10 нМ) тритированного

соединения примера 1 ($[^3\text{H}]$ -Пример-1) или возрастающими концентрациями $[^3\text{H}]$ -Примера-1 в диапазоне от 2,5 нМ до 80 нМ тритированного соединения в Tris-HCl буфере в течение двух часов при комнатной температуре (общее связывание, 'ТВ'). Для определения неспецифического (NSB) связывания ($[^3\text{H}]$ -Пример-1 смешивали с 5 мкМ радиоактивно немеченого соединения (Пример 1, самоблокировка, 'NSB'). Предметные стекла промывали, а затем экспонировали и сканировали в системе ауторадиографии в реальном времени (BeaQuant instrument, ai4R). Специфическое связывание определяли путем вычитания неспецифического сигнала из общего сигнала. Значения K_d рассчитывали в GraphPad Prism7 путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом.

Результаты: $[^3\text{H}]$ -Пример-1 продемонстрировал дозозависимый ауторадиографический сигнал в генетическом случае PD (фиг. 2А). Замещающий сигнал хорошо коррелировал с локализацией патологии альфа-синуклеина, что определялось путем окрашивания антителом α -syn-pS129, что указывает на специфическое связывание соединения с тканью PD (фиг. 2В). Путем количественной оценки специфического сигнала рассчитывали константу диссоциации (K_d) при 44 нМ (фиг. 2С/таблица 4), что свидетельствует о хорошей аффинности связывания с патологическими агрегатами альфа-синуклеина.

Таблица 4:

$[^3\text{H}]$ -Пример-1 при генетической PD (SNCA (G51D))	
K_d	44 нМ
R^2	0,97

Таблица 4: Оценка аффинности связывания $[^3\text{H}]$ -примера-1 на срезах ткани головного мозга человека при семейном случае PD (миссенс-мутация G51D) с помощью ауторадиографии. Константу диссоциации (K_d) рассчитывали путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом GraphPad Prism7. R^2 представляет собой коэффициент детерминации.

Кроме того, $[^3\text{H}]$ -Пример-1 продемонстрировал целевое воздействие в различных тканях альфа-синуклеинопатии, включая один случай PDD, один случай LBV и один случай MSA (фиг. 3А). Замещающий сигнал хорошо коррелировал с локализацией и нагрузкой патологии альфа-синуклеина, что определялось путем окрашивания антителом α -syn-pS129 (фиг. 3В), что указывает на специфическое связывание соединения. Кроме того, ауторадиографический сигнал оказался более сильным у больных доноров по сравнению с контрольными случаями без деменции, для которых сигнал был очень слабым (фиг. 3А).

5. Исследования насыщения связывания с агрегатами альфа-синуклеина, полученными из головного мозга при PD, с помощью микрорадиосвязывания

Агрегаты альфа-синуклеина, полученные из головного мозга при PD, наносили на предметные стекла микрочипов. Предметные стекла инкубировали с $[^3\text{H}]$ -Примером-1 при

возрастающих концентрациях в диапазоне от 156 пМ до 47 нМ. После инкубации предметные стекла промывали и помещали на люминофорный экран для хранения (GE healthcare, BAS-IP TR 2025). После экспозиции люминофорные экраны для хранения сканировали с помощью системы лазерной визуализации (Typhoon FLA 7000) для считывания сигнала из экспериментов по радиосвязыванию, описанных выше. Количественную оценку сигнала проводили с использованием программного пакета ImageJ. Неспецифический сигнал определяли с избытком радиоактивно немеченого эталонного лиганда (пример-1 при 2 мкМ) и специфическое связывание рассчитывали путем вычитания неспецифического сигнала из общего сигнала. Значения K_d рассчитывали в GraphPad Prism7 путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом.

Результаты: [^3H]-Пример-1 оценивали в исследованиях связывания с насыщением гомогенатов тканей PD с помощью микрорадиосвязывания. Как показано на фиг. 4 и в таблице 5, константу диссоциации (K_d) рассчитывали при 18 нМ, что свидетельствует о хорошей аффинности связывания с патологическими агрегатами альфа-синуклеина.

Таблица 5:

^3H -Пример-1 в генетическом PD (SNCA (G51D))	
K_d	18 нМ
R^2	0,93

Таблица 5: Оценка аффинности связывания [^3H]-Примера-1 на гомогенатах ткани головного мозга человека в случае идиопатической PD с помощью микрорадиосвязывания. Константу диссоциации (K_d) рассчитывали путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом GraphPad Prism7. R^2 представляет собой коэффициент детерминации.

6. Анализ конкурентного радиосвязывания для определения константы ингибирования (K_i) на гомогенатах мозга при AD

Получение гомогенатов головного мозга человека с болезнью Альцгеймера (AD):

Процедура была адаптирована на основе протокола, описанного в Bagchi et al., 2013. Блоки замороженных тканей от доноров с AD размораживали на льду и гомогенизировали в высокосолевым буфере (50 mM Tris-HCl pH 7,5, 0,75M NaCl, 5 mM EDTA), дополненном ингибиторами протеазы (Complete; Roche 11697498001) при 4°C с использованием стеклянного гомогенизатора Даунса. Гомогенат центрифугировали при 100000 x g (38000 об/мин) в ультрацентрифуге (Beckman, XL100K) в течение одного часа при 4°C с использованием предварительно охлажденного ротора 70.1 (Beckman, 342184). Осадки ресуспендировали в высокосолевым буфере, дополненном 1% Triton X-100, и гомогенизировали при 4°C с использованием стеклянного гомогенизатора Даунса. Гомогенаты снова центрифугировали при 100000 x g (38000 об/мин, 70.1 ротор) в течение одного часа при 4°C. Осадки ресуспендировали в высокосолевым буфере, дополненном

1% Triton X-100 и 1М сахарозы, и гомогенизировали при 4°C с использованием стеклянного гомогенизатора Даунса. Гомогенаты центрифугировали при 100000 x g (38000 об/мин, 70.1 ротор) в течение одного часа при 4°C. Полученные осадки, содержащие нерастворимую фракцию, ресуспендировали в PBS, разделяли на аликвоты и хранили при -80°C до использования.

Фиксированную концентрацию нерастворимой фракции AD инкубировали с тритиевым эталонным лигандом Абета ($[^3\text{H}]\text{-Abeta-Ref}$) при 10 нМ и возрастающими концентрациями радиоактивно немеченого соединения примера 1 в диапазоне от 400 пМ до 2 мкМ в течение двух часов при комнатной температуре. Затем образцы фильтровали под вакуумом на фильтровальных планшетах GF/C (PerkinElmer) для улавливания агрегатов со связанным радиолигандом и пять раз промывали 50 мМ Tris pH 7,5. Затем фильтры GF/C сушили и сцинтилляционную жидкость (UltimateGold, PerkinElmer) добавляли в каждую лунку. Фильтры анализировали на сцинтилляционном счетчике Microbeta2 (PerkinElmer). Неспецифический сигнал определяли с избытком радиоактивно немеченого эталонного лиганда (2 мкМ) и специфическое связывание рассчитывали путем вычитания неспецифического сигнала из общего сигнала. Конкуренцию рассчитывали в процентах, где 0% определяли как специфическое связывание в присутствии носителя, а 100% как значения, полученные в присутствии избытка радиоактивно немеченого эталонного лиганда. Значения K_i рассчитывали в GraphPad Prism7 путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом. Измерения проводились как минимум в двух повторностях в двух независимых экспериментах.

Результаты: Как показано на фиг. 5 и в таблице 6, значение K_i соединения примера 1 в гомогенатах, полученных из мозга при AD, определяли при 360 нМ. На основании аффинности связывания $[^3\text{H}]\text{-Примера-1}$ с тканями головного мозга при PD с помощью ауторадиографии и в гомогенатах головного мозга при PD с помощью микрорадиосвязывания, соединение примера 1 показало хорошую селективность в отношении альфа-синуклеина по сравнению с патологическими агрегатами Абета, присутствующими в гомогенатах головного мозга человека при AD. Кроме того, $[^3\text{H}]\text{-Пример-1}$ не продемонстрировал специфического целевого взаимодействия с тау-агрегатами в тканях мозга при AD по сравнению с эталонным тау-связывающим средством, используемым в качестве положительного контроля (фиг. 6), что свидетельствует о хорошей селективности в отношении альфа-синуклеина по сравнению с патологическими агрегатами тау. В целом, эти данные указывают на селективность для альфа-синуклеина соединения примера 1 по сравнению с другими амилоидоподобными белками, такими как Абета и Тау.

Таблица 6:

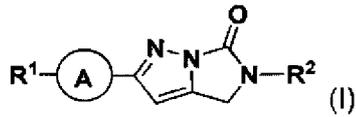
Пример-1	
K_i	360 нМ

R^2	0,96
-------	------

Таблица 6: Определение значения K_i соединения примера 1 для замены [^3H]-Abeta-Ref радиоактивно немеченым соединением примера 1 на гомогенатах, полученных из головного мозга при AD. Значения K_i и R^2 рассчитывали путем применения подбора кривой нелинейной регрессии с использованием модели специфического связывания с одним сайтом в GraphPad Prism7.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



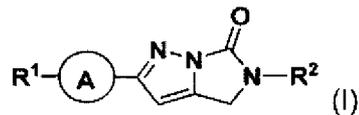
или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

Ⓐ представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген, галогенC₁-C₄алкокси или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила.

2. Соединение формулы (I) по п. 1:



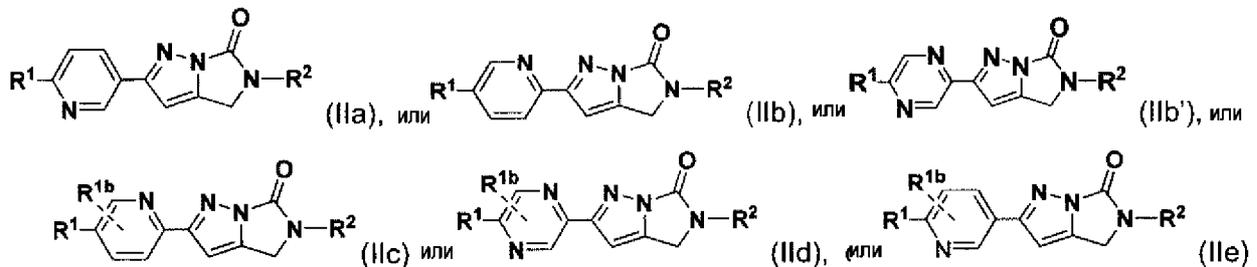
или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

Ⓐ представляет собой 6-членный гетероарил;

R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном; и

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила.

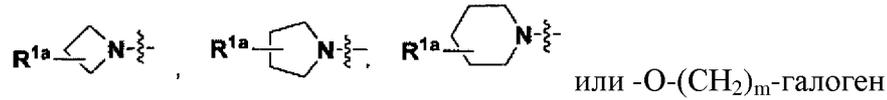
3. Соединение по п. 1 или 2, имеющее формулу (IIa), (IIb), (IIb'), (IIc), (IId) или (IIe):



или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где R^{1b} представляет собой галоген или C₁-C₄алкил.

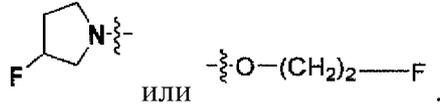
4. Соединение по любому из п.п. 1-3, где R¹ представляет собой 4-6-членный

гетероцикл, выбранный из следующих:

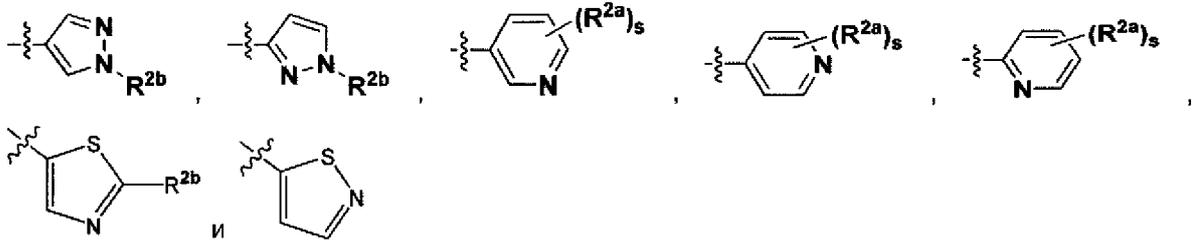


где R^{1a} представляет собой галоген или H, и m имеет значение 1 или 2

5. Соединение по п. 4, где R^1 представляет собой 5-членный гетероцикл, выбранный из следующих:



6. Соединение по любому из п.п. 1-5, где R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:



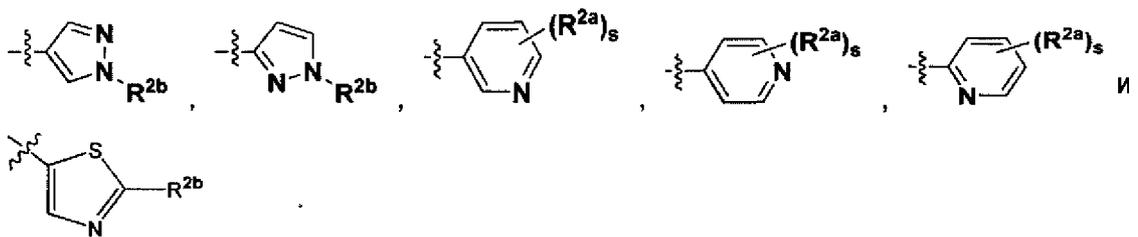
где

R^{2a} независимо выбран из галоген $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила, галоген $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкокси, $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкокси и $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила;

R^{2b} выбран из H, галоген $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила, галоген $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкокси, $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкокси и $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила; и

s имеет значение 0, 1 или 2.

7. Соединение по п. 6, где R^2 5-членный или 6-членный гетероарил, выбранный из следующих:

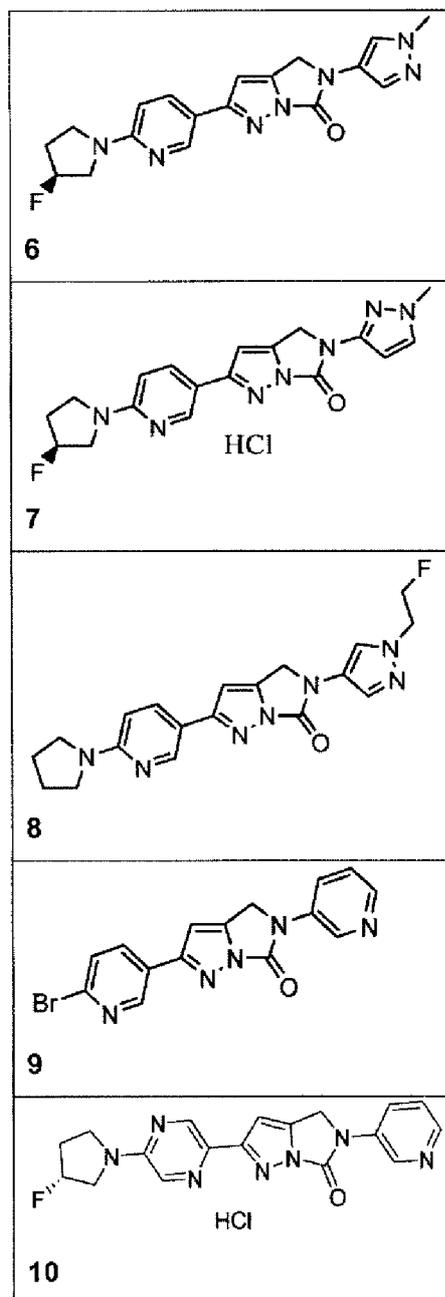
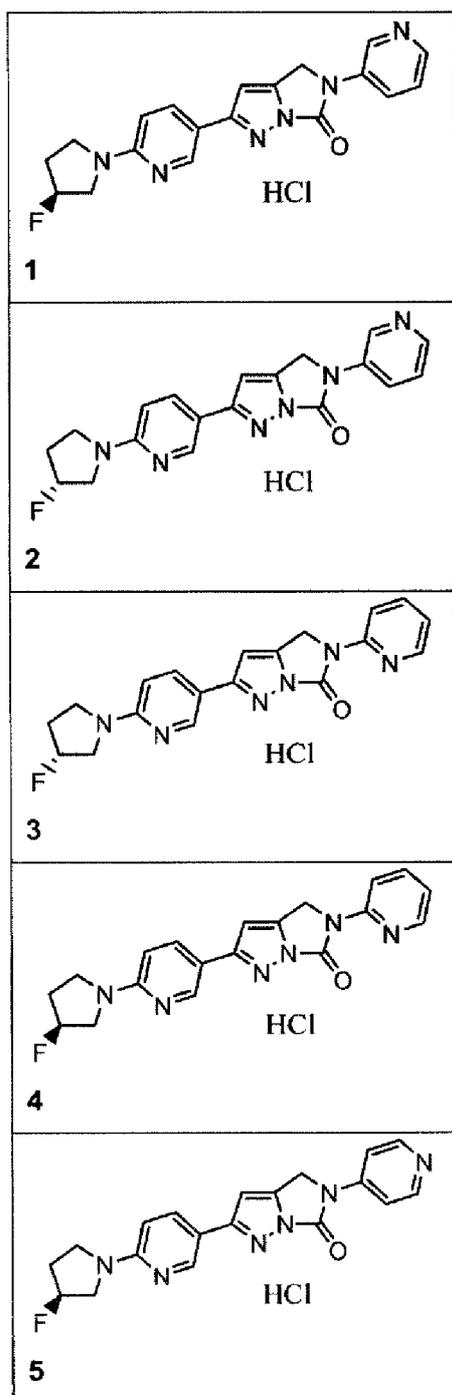


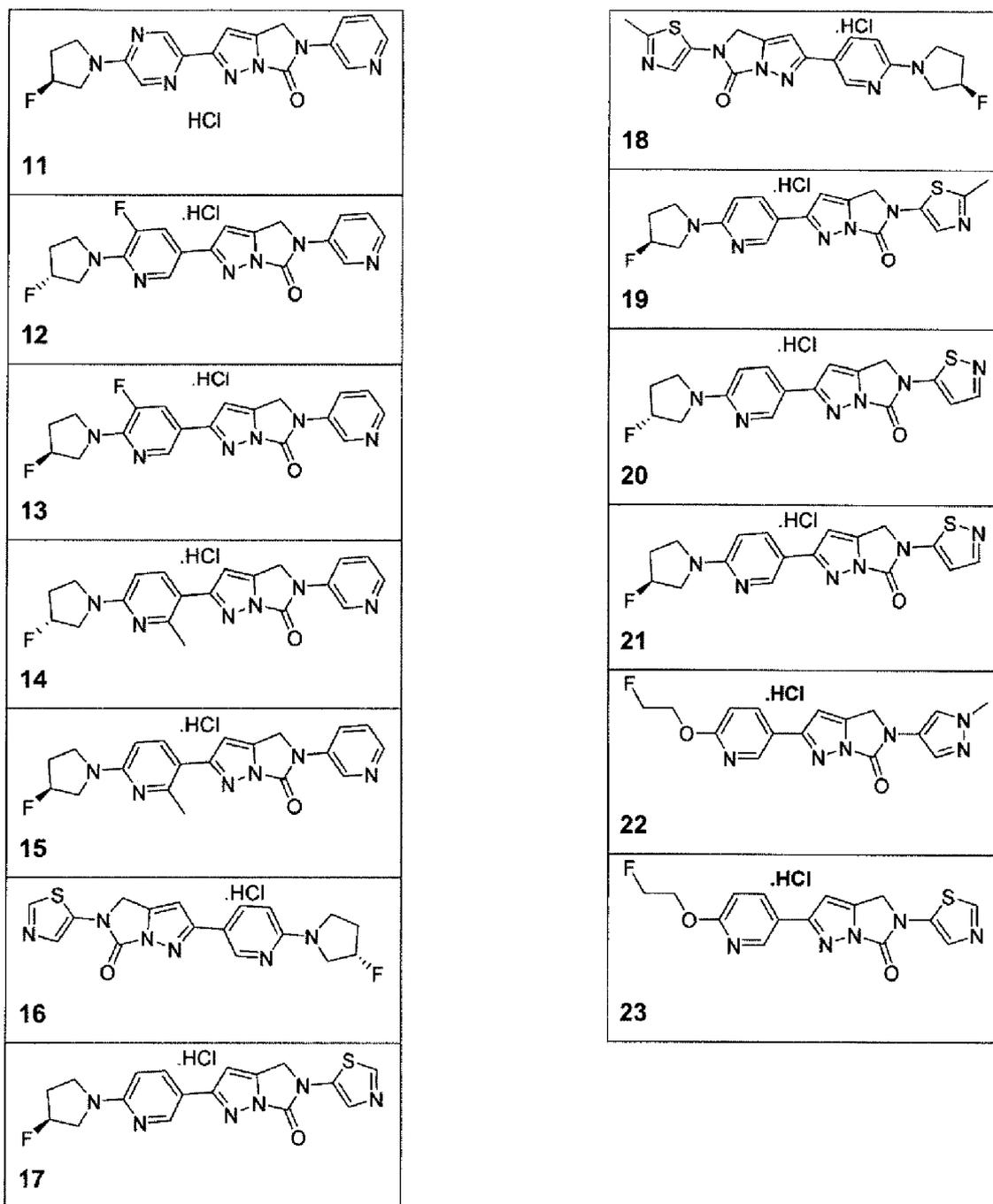
где

R^{2b} выбран из H, $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила и галоген $\text{C}_1\text{-C}_4$ алкила; и

s имеет значение 0.

8. Соединение по п. 1, где соединение выбрано из:

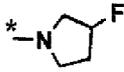




или его детектируемое меченое соединение, стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват.

9. Соединение по любому из предшествующих пунктов, где соединение представляет собой детектируемое меченое соединение.

10. Соединение по п. 9, где детектируемое меченое соединение включает детектируемую метку, выбранную из радиоизотопа, предпочтительно ^2H , ^3H или ^{18}F .

11. Соединение по п. 9 или 10, где R^1 представляет собой  и соединение формулы (I) является детектируемо меченым по меньшей мере в одном доступном положении ^3H .

12. Диагностическая композиция, включающая соединение по любому из п.п. 1-11 и необязательно по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, разбавитель и/или адъювант.

13. Соединение по любому из п.п. 9-11 или диагностическая композиция по п. 12 для применения в визуализации агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

14. Соединение по любому из п.п. 9-11 или диагностическая композиция по п. 12, для применения в позитронно-эмиссионной томографии агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

15. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 13 или 14, где применение предназначено для визуализации *in vitro*, визуализации *ex vivo* или визуализации *in vivo*, предпочтительно применение предназначено для визуализации *in vivo*, более предпочтительно применение предназначено для визуализация головного мозга.

16. Соединение по любому из п.п. 9-11 или диагностическая композиция по п. 12 для применения в диагностике.

17. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 16, где диагностика представляет собой диагностику заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, или предрасположенности к ним, где заболевание, расстройство или аномалия необязательно выбраны из болезни Паркинсона (включая спорадическую, семейную с мутациями альфа-синуклеина, семейную с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, чистую вегетативную недостаточность и дисфагию в тельцах Леви), носитель дупликации SNCA, болезнь телец Леви (LBD), деменцию с тельцами Леви (DLB) (включая «чистую» деменцию с тельцами Леви), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), болезнь диффузных телец Леви (DLBD), болезнь Альцгеймера, спорадическую болезнь Альцгеймера, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями APP, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейную британскую деменцию, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви, синдром Дауна, множественную системную атрофию (MSA) (включая синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральную дегенерацию или оливопонтocerebellарную атрофию), черепно-мозговую травму, хроническую травматическую энцефалопатию, деменцию боксеров, таупатии (включая болезнь Пика, лобно-височную деменцию, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальную дегенерацию, болезнь Ниманна-Пика тип C1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанные с хромосомой 17), болезнь Крейтцфельда-Якоба, болезнь Гентингтона, болезнь двигательных нейронов, боковой амиотрофический склероз (включая спорадический, семейный или ALS-деменции комплекс Гуама), нейроаксональную дистрофию, нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге 1 типа (включая синдром Галлервордена-Шпатца), прионные заболевания, атаксию-

телеангиэктазию, синдром Мейжа, подострый склерозирующий панэнцефалит, болезнь Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, болезнь Гоше, болезнь Краббе, а также другие лизосомные болезни накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушение поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM).

18. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой болезнь Паркинсона.

19. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой множественную системную атрофию.

20. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой деменцию с тельцами Леви.

21. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой деменцию при болезни Паркинсона.

22. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой носитель дупликации SNCA.

23. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по п. 17, где заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

24. Соединение для применения или диагностическая композиция для применения по любому из п.п. 13-23, где применение осуществляется у человека.

25. Способ диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанной с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у субъекта, включающий стадии:

(а) введение соединения по любому из п.п. 1-11 или диагностической композиции по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;
и

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

26. Способ диагностики по п. 25, дополнительно включающий стадию:

(d) получения изображения, представляющего локализацию и/или количество соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

27. Способ визуализации с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающий стадии:

(а) введение соединения по любому из п.п. 1-11 или диагностической композиции по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11, субъекту;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

и

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, путем сбора изображения позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) ткани субъекта.

28. Способ визуализации с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта по п. 27, где ткань представляет собой ткань центральной нервной системы (ЦНС), ткань глаза, ткань периферического органа или ткань головного мозга, предпочтительно, где ткань представляет собой ткань головного мозга.

29. Способ детекции и, необязательно, количественного определения агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в ткани субъекта, включающий стадии:

(а) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с использованием позитронно-эмиссионной томографии; и

(d) необязательно, количественное определение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви.

30. Способ сбора данных для диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающий стадии:

(а) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина,

включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

31. Способ сбора данных для определения предрасположенности к заболеванию, расстройству или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающий стадии:

(а) приведение образца или определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви; и

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела.

32. Способ сбора данных для прогнозирования заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, включающий стадии:

(а) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(e) необязательно повторение стадий (а)-(с) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

33. Способ сбора данных для мониторинга прогрессирования заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но

не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, у пациента, включающий стадии:

(а) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(е) необязательно повторение стадий (а)-(с) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

34. Способ сбора данных для прогнозирования реакции пациента, страдающего от заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, на лечение лекарственным средством, включающий стадии:

(а) приведение образца, определенной части тела или участка тела, предположительно содержащего агрегаты альфа-синуклеина, включающие, но не ограниченные ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в контакт с соединением по любому из п.п. 1-11 или диагностической композицией по п. 12, которая включает соединение по любому из п.п. 1-11;

(b) обеспечение возможности связывания соединения с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(с) детекция соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

(d) необязательно, корреляцию присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

(е) необязательно повторение стадий (а) - (с) и, если присутствует, необязательной стадии (d) по меньшей мере один раз.

35. Способ по любому из п.п.30-34, где стадия необязательной корреляции присутствия или отсутствия соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина,

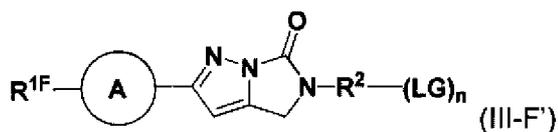
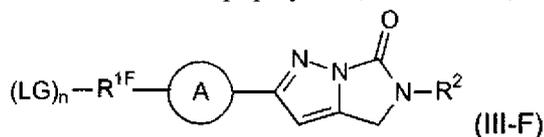
включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с присутствием или отсутствием агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; включает

- определение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви;

- корреляцию количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, с количеством агрегатов альфа-синуклеина, включающих, но не ограниченных ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела; и

- необязательно сравнение количества соединения, связанного с агрегатами альфа-синуклеина, включающими, но не ограниченными ими, тельца Леви и/или нейриты Леви, в образце или определенной части тела или участке тела с нормальным контрольным значением у здорового контрольного субъекта.

36. Соединение формулы (III-F) или (III-F')



или его стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

$\textcircled{\text{A}}$ представляет собой 6-членный гетероарил; который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C_1 - C_4 алкила

$\text{R}^{1\text{F}}$ представляет собой 4-6-членный гетероцикл или C_1 - C_4 алкокси;

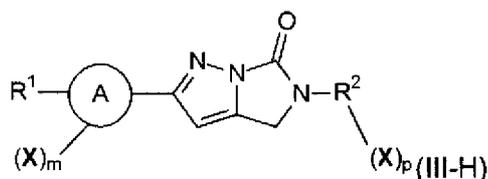
R^2 представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галоген C_1 - C_4 алкила, галоген C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкокси и C_1 - C_4 алкила;

LG представляет собой уходящую группу; и

n имеет значение по меньшей мере 1.

37. Соединение формулы (III-F) или (III-F') по п.36, где LG выбран из брома, хлора, йода, C_1 - C_4 алкилсульфоната и C_6 - C_{10} арилсульфоната, где C_6 - C_{10} арилсульфонат может быть необязательно замещен $-\text{CH}_3$ или $-\text{NO}_2$.

38. Соединение формулы (III-H)



или его стереоизомер, рацемическая смесь, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват, где

A представляет собой 6-членный гетероарил, который необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, независимо выбранным из галогена или C₁-C₄алкила;

R¹ представляет собой галоген или 4-6-членный гетероцикл, который необязательно замещен по меньшей мере одним галогеном или галогенC₁-C₄алкокси;

R² представляет собой 5-членный или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из галогенC₁-C₄алкила, галогенC₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкокси и C₁-C₄алкила;

m имеет значение 0, 1 или 2;

p имеет значение 0, 1 или 2; и

X представляет собой бром, хлор или йод;

при условии, что соединение формулы (III-H) включает по меньшей мере один X.

39. Способ получения соединения по п. 9 или 10, включающий взаимодействие соединения формулы (III-F) или (III-F') по п. 36 или 37 с ¹⁸F-фторирующим агентом, так что LG замещается ¹⁸F.

40. Способ по п. 39, где ¹⁸F-фторирующий агент выбран из K¹⁸F, Rb¹⁸F, Cs¹⁸F, Na¹⁸F, КRYPTOFIX[222]K¹⁸F, тетра(C₁₋₆алкил)аммониевой соли ¹⁸F и тетрабутиламмония [¹⁸F]фторида.

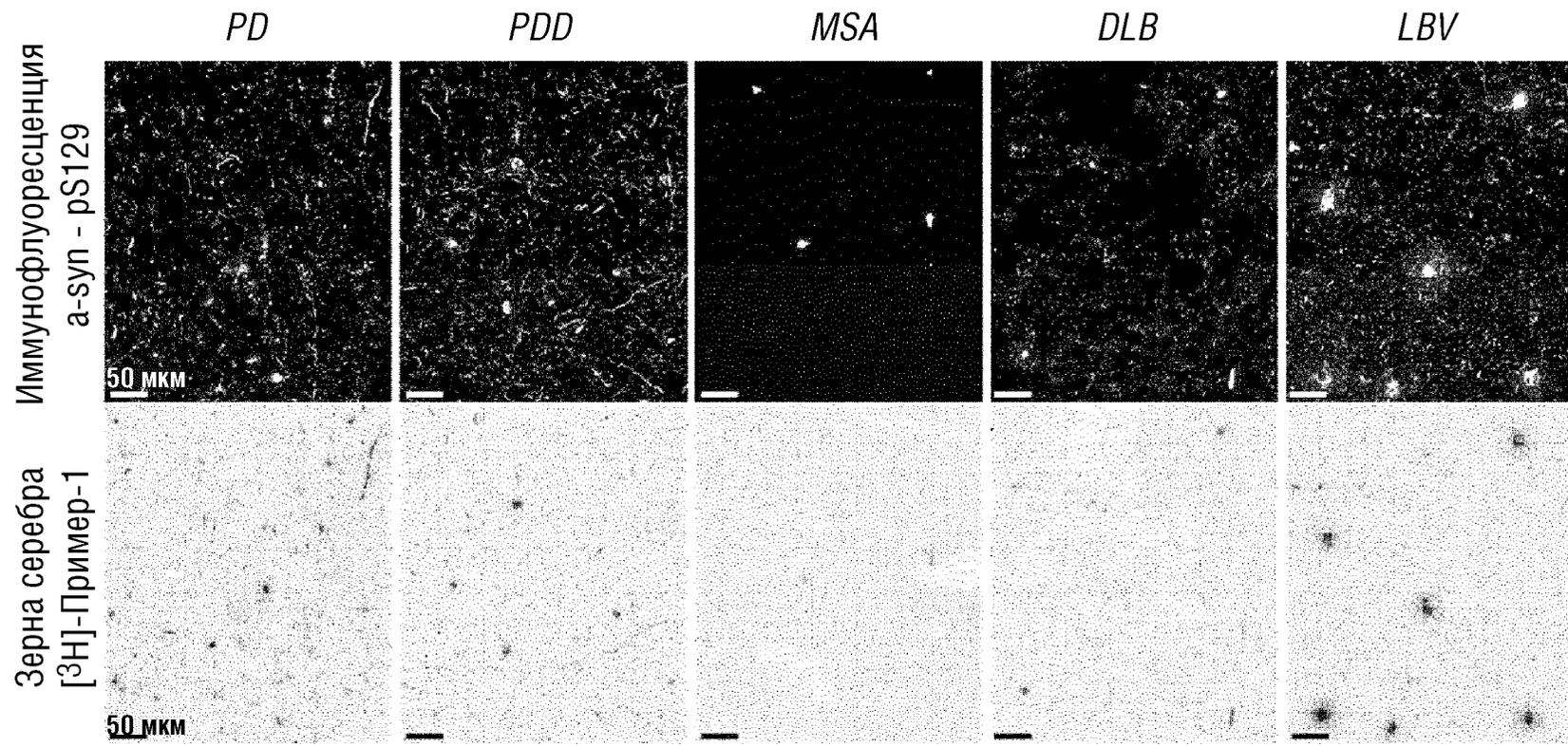
41. Способ получения соединения по п. 9 или 10, включающий взаимодействие соединения формулы (III-H) по п. 38 с агентом для радиоактивного мечения ³H.

42. Соединение по любому из п.п. 1-11, для применения в качестве аналитического эталона *in vitro* или инструмента для скрининга *in vitro*.

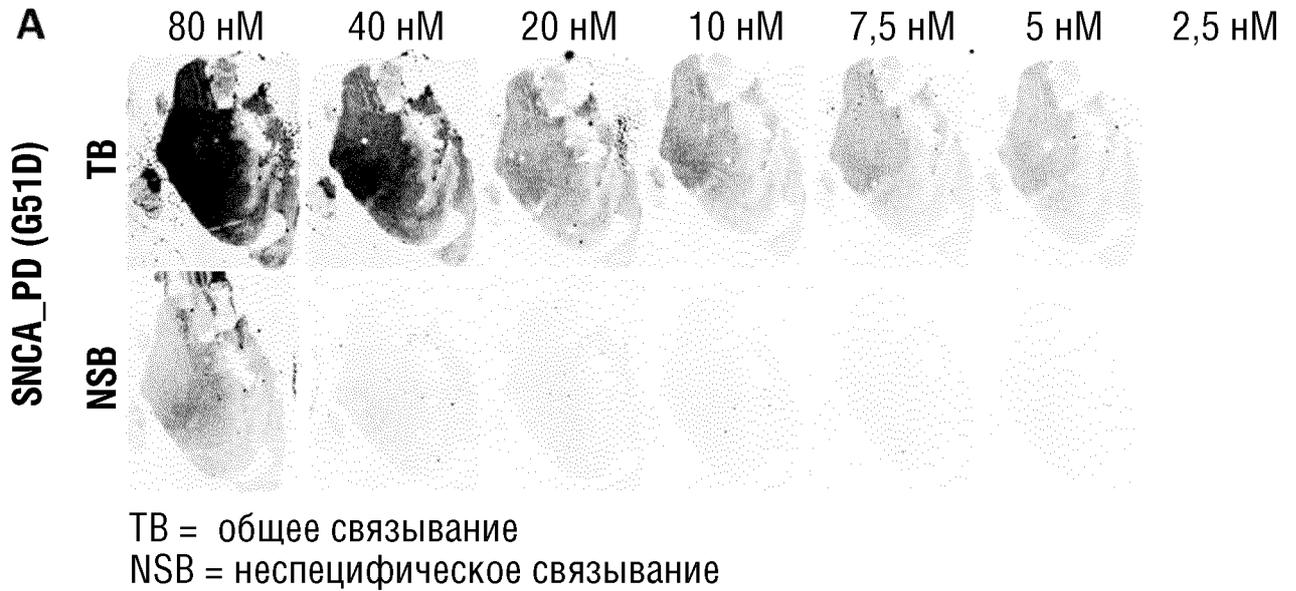
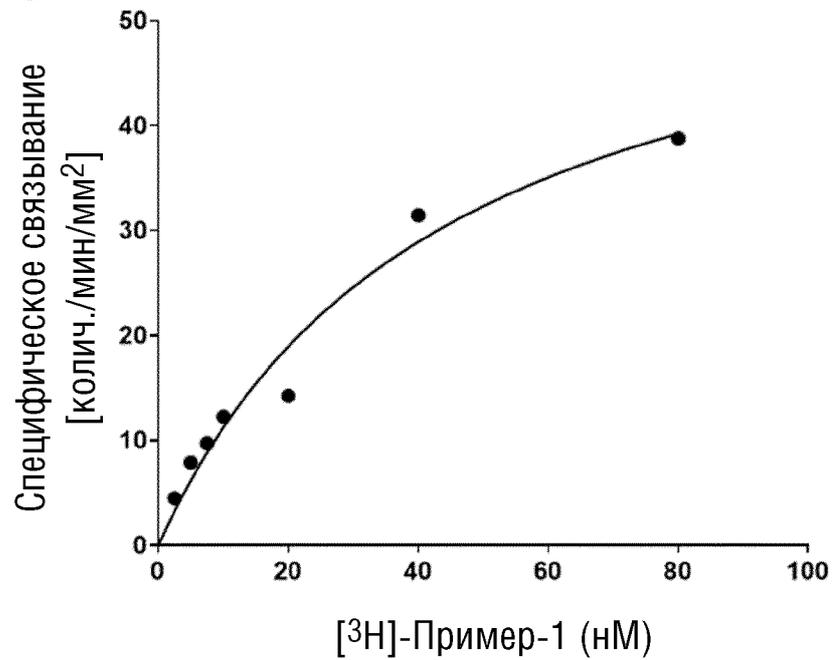
43. Тест-набор для детекции и/или диагностики заболевания, расстройства или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, где тест-набор включает по меньшей мере одно соединение, определенное в любом из п.п. 1-11.

44. Набор для получения радиофармацевтического препарата, где набор включает запечатанный флакон, содержащий по меньшей мере одно соединение, определенное в любом из п.п. 36-38.

ФИГ.1

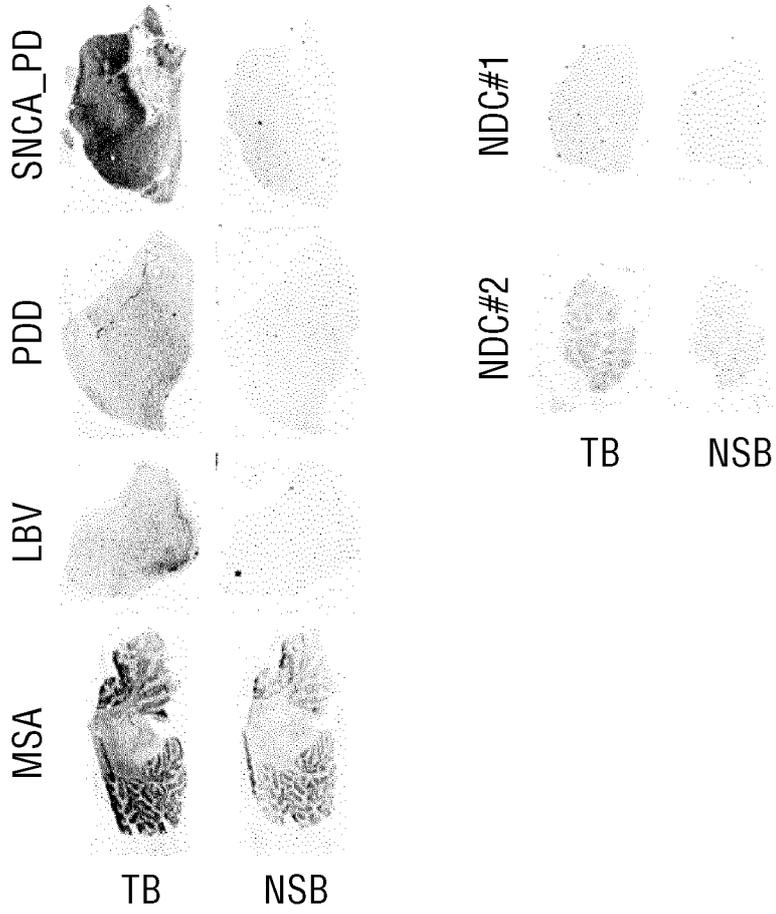


ФИГ.2

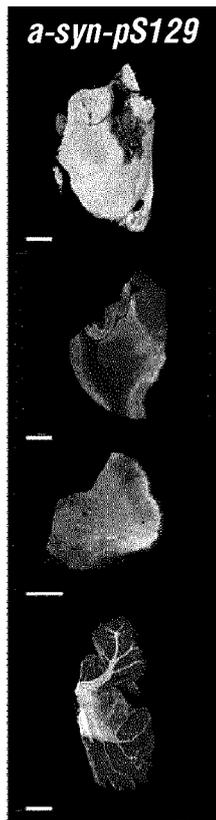
**B****C**

ФИГ.3

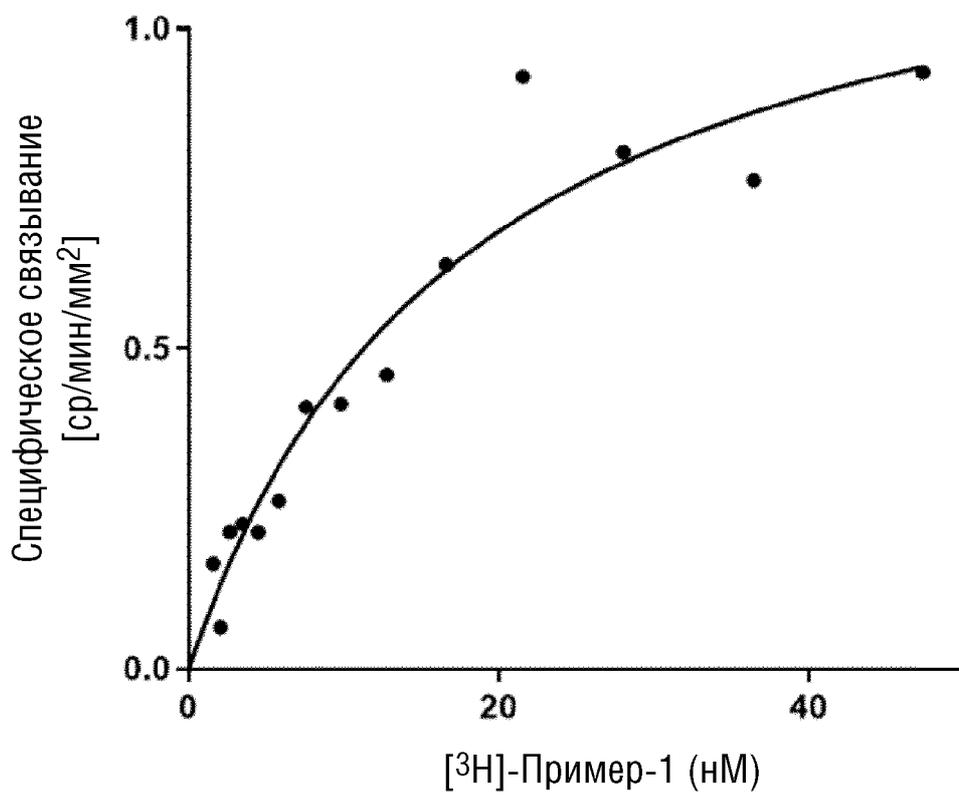
A



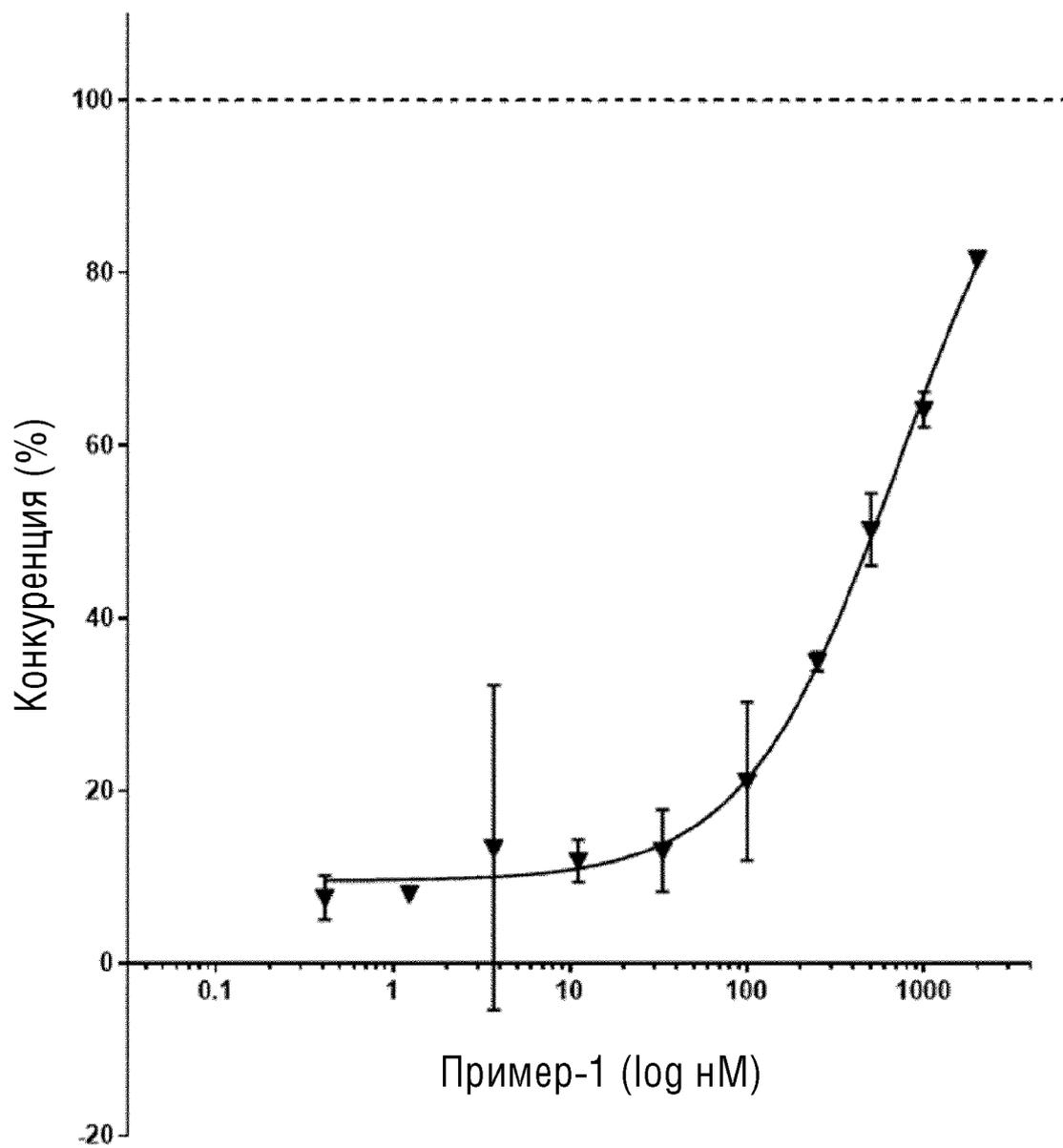
B



ФИГ.4



ФИГ.5



ФИГ.6

