



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118248** (13) **C2**
(51) МПК (2018.01)**C07D 401/12** (2006.01)**C07D 453/02** (2006.01)**C07D 455/02** (2006.01)**C07D 487/08** (2006.01)**A61K 31/439** (2006.01)**A61K 31/44** (2006.01)

A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2013 12420	(72) Винахідник(и): Бурке Еліз (US), Селатка Кассандра (US), Херт Бредфорд (US), Метц Маркус (US), Чжао Чжун (US), Скерлдж Ренато (US), Сян Ібінь (US), Джансізікс Кетрін (US), Маршалл Джон (US), Чен Сен (US), Шойле Рональд (US), Кабрера-Салазар Маріо (US), Гуд Ендрю (US)
(22) Дата подання заявки: 16.03.2012	(73) Власник(и): ДЖЕНЗІМ КОРПОРЕЙШН, 500 Kendall Street, Cambridge, MA 02142, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.12.2018	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/454,034, 61/590,711	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2010091164 (A1), 12.08.2010 WO 2004007453 (A1), 22.01.2004 US 2004002513 (A1), 01.01.2004 WO 2010091104 (A1), 12.08.2010 WO 2010014455 (A2), 04.02.2010 US 2006058349 (A1), 16.03.2006 US 2009163500 (A1), 25.06.2009
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 18.03.2011, 25.01.2012	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.03.2014, Бюл.№ 6	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.12.2018, Бюл.№ 24	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2012/029417, 16.03.2012	

(54) ІНГІБІТОРИ ГЛЮКОЗИЛЦЕРАМІДСИНТАЗИ**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується інгібіторів глюкозилцерамідсинтази (GCS), які можна застосовувати для лікування метаболічних захворювань, таких як хвороби лізосомного накопичення, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією, а також для лікування раку.

UA 118248 C2

Опис

Передумови створення винаходу

Галузь техніки, до якої належить винахід

У загальному значенні даний винахід стосується галузі терапії раку і метаболічних захворювань. Більш конкретно, даний винахід стосується інгібіторів глікозилцерамід-синтази (GCS), які можна застосовувати для лікування метаболічних захворювань, таких як хвороби лізосомного накопичення (у вигляді монотерапії або в поєднанні з ферментозамісною терапією), а також для лікування раку.

Опис попереднього рівня техніки

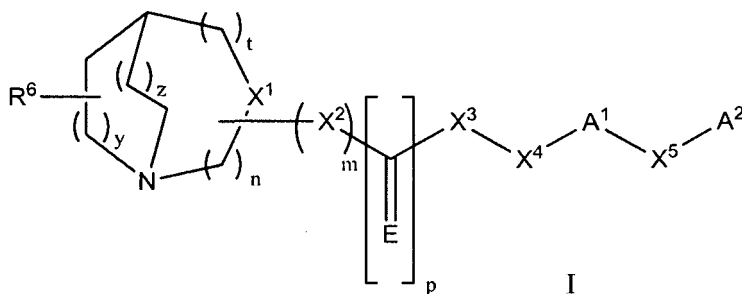
Глікозилцерамід-синтаза (GCS) являє собою ключовий фермент, який каталізує стадію початкового глікозилування в біосинтез глікосфінголіпідів (GSLs) на основі глікозилцерамідів, а саме, шляхом ключового перенесення глюкози від UDP-глюкози (UDP-Glc) до цераміду для утворення глікозилцераміду (див. Fig. 1). GCS є трансмембранним інтегральним білком типу III, локалізованим в цис/медіальних цистернах апарату Гольджі. Глікосфінголіпіди (GSLs), як вважають, являють собою інтегральну частину динаміки багатьох клітинних подій, включаючи клітинні взаємодії, передачу сигналів і транспорт. Було показано (див. Yamashita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96(16), 9142-9147), що синтез структур GSL є важливим для ембріонального розвитку і диференціювання деяких тканин. Церамід відіграє центральну роль в метаболізмі сфінголіпідів, а знижувальна регуляція активності GCS, як було показано, надає помітні ефекти на склад сфінголіпідів, знижуючи експресію глікосфінголіпідів. Сфінголіпіди (SLs) відіграють біомодуляторну роль в фізіологічних і патофізіологічних серцево-судинних станах. Зокрема, сфінголіпіди і їх регуляторні ферменти, ймовірно, відіграють деяку роль в адаптивних реакціях на хронічну гіпоксію в серці новонароджених щурів (див. El Alwanit et al., Prostaglandins and other lipid mediators 2005, 78(1-4), 249-263).

Інгібітори GCS були запропоновані для лікування багатьох захворювань (див., наприклад, WO 2005068426). Такі способи лікування включають в себе лікування хвороб накопичення гліколіпідів (наприклад, хвороби Тея-Сакса, Сандхоффа, дефіциту активатора GM2, GM1-гангліозидозу і хвороби Фабрі), захворювань, пов'язаних з накопиченням гліколіпідів (наприклад, хвороби Гоше; міглулат (Zavesca), інгібітор GCS, був схвалений для застосування при лікуванні пацієнтів з хворобою Гоше типу 1, див. Treiber et al., Xenobiotica 2007, 37(3), 298-314), захворювань, що викликають ренальну гіпертрофію або гіперплазію, таку як діабетична нефропатія; захворювань, які викликають гіперглікемію або гіперінсулінемію; форм раку з аномальним синтезом гліколіпідів, інфекційних захворювань, викликаних мікроорганізмами, що використовують поверхневі клітинні гліколіпіди як рецептори, інфекційні захворювання, при яких істотним або важливим чинником є синтез глікозилцераміду, інших захворювань, при яких істотним або важливим чинником є синтез глікозилцераміду, захворювань, при яких має місце надмірний синтез гліколіпідів (таких як атеросклероз, полікістозна хвороба нирок і гіпертрофія нирок), неврологічних розладів, неврологічних травм, запальних захворювань або розладів, пов'язаних з рекрутингом і активацією макрофагів (наприклад, ревматоїдного артриту, хвороби Крона, астми і сепсису) і цукрового діабету і ожиріння (див. WO 2006053043).

Зокрема, було показано, що надмірна експресія GCS є частиною механізму множинної лікарської резистентності і, крім того, вона перериває апоптоз, індукований церамідами. Наприклад, Turzanski et al., (Experimental Hematology 2005, 33 (1), 62-72 показали, що церамід індукуює апоптоз клітин при гострому мієлоїдному лейкозі (AML) і що Р-глікопротеїн (p-gp) додає резистентності до апоптозу, індукованому церамідами, причому цю резистентність клітин TF-1 значною мірою визначає модулювання церамід-глікозилцерамідного шляху. Таким чином, інгібітори GCS можуть бути корисними для лікування проліферативних розладів за допомогою індукування апоптозу хворих клітин.

Суть винаходу

Даний винахід стосується сполуки, представленої наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятної солі або проліків, де:

n дорівнює 1, 2 або 3;

m дорівнює 0 або 1;

5 p дорівнює 0 або 1;

t дорівнює 0, 1 або 2;

y дорівнює 1 або 2;

z дорівнює 0, 1 або 2;

E являє собою S, O, NH, NOH, NNO₂, NCN, NR, NOR або NSO₂R;

10 X¹ являє собою CR¹, коли m дорівнює 1, або N, коли m дорівнює 0;

X² являє собою O, -NH, -CH₂-, SO₂, NH-SO₂; CH(C₁-C₆)-алкіл або -NR²;

X³ являє собою O, -NH, -CH₂-, CO, -CH(C₁-C₆)-алкіл, SO₂NH, -CO-NH- або -NR³;

X⁴ являє собою CR⁴R⁵, CH₂CR⁴R⁵ або CH₂-(C₁-C₆)-алкіл-CR⁴R⁵;

15 X⁵ являє собою прямий зв'язок, O, S, SO₂, CR⁴R⁵; (C₁-C₆)-алкіл, (C₁-C₆)-алкілоксигрупу, (C₁-C₆)-алкеніл, (C₁-C₆)-алкенілоксигрупу;

R являє собою (C₆-C₁₂)-арил, (C₂-C₉)-гетероарил, (C₁-C₆)-алкіл, (C₂-C₉)-гетероарил-(C₁-C₆)-алкіл;

R¹ являє собою H, CN, (C₁-C₆)-алкілкарбоніл або (C₁-C₆)-алкіл;

20 кожний з радикалів R² і R³ незалежно являє собою -H, (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає в себе галоген, (C₁-C₆)-алкіл, (C₆-C₁₂)-арил, (C₂-C₉)-гетероарил, (C₁-C₆)-алкіл-(C₆-C₁₂)-арил, галоген-(C₆-C₁₂)-арил і галоген-(C₂-C₉)-гетероарил або, необов'язково, коли X² являє собою -NR², а X³ являє собою -NR³, тоді R² і R³ разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють неароматичне гетероциклічне кільце, необов'язково, заміщене одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає в себе галоген, (C₁-C₆)-алкіл, (C₆-C₁₂)-арил, (C₂-C₉)-гетероарил, (C₁-C₆)-алкіл-(C₆-C₁₂)-арил, галоген-(C₆-C₁₂)-арил і галоген-(C₂-C₉)-гетероарил;

25 R⁴ і R⁵ є незалежно вибраними з H, (C₁-C₆)-алкілу або спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C₃-C₁₀)-циклоалкільне кільце або спіро-(C₃-C₁₀)-циклоалкоксильне кільце;

30 R⁶ являє собою -H, галоген, -CN, (C₆-C₁₂)-арил, (C₆-C₁₂)-арилоксигрупу, (C₁-C₆)-алкілоксигрупу; (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково, заміщений 1-4 галогенами, або (C₁-C₆)-алкіл;

35 A¹ являє собою (C₂-C₆)-алкініл; (C₆-C₁₂)-арил, (C₂-C₉)-гетероарил, (C₂-C₉)-гетероциклоалкіл або бензо-(C₂-C₉)-гетероциклоалкіл, необов'язково, заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає в себе галоген, (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково, заміщений 1-3 галогенами; (C₁-C₆)-алкеніл, аміногрупу, (C₁-C₆)-алкіламіногрупу, (C₁-C₆)-діалкіламіногрупу, (C₁-C₆)-алкоксигрупу, нітрогрупу, CN, -OH, (C₁-C₆)-алкілоксигрупу, необов'язково, заміщену 1-3 галогенами; (C₁-C₆)-алкоксикарбоніл і (C₁-C₆)-алкілкарбоніл;

40 A² являє собою H, (C₆-C₁₂)-арил, (C₂-C₉)-гетероарил, (C₂-C₉)-гетероциклоалкіл або бензо-(C₂-C₉)-гетероциклоалкіл, необов'язково, заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає в себе галоген, (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково, заміщений 1-3 галогенами; (C₁-C₆)-алкіленіл, аміногрупу, (C₁-C₆)-алкіламіногрупу, (C₁-C₆)-діалкіламіногрупу, (C₁-C₆)-алкоксигрупу, O(C₃-C₆-циклоалкіл), (C₃-C₆)-циклоалкоксигрупу, нітрогрупу, CN, OH, (C₁-C₆)-алкілоксигрупу, необов'язково, заміщену 1-3 галогенами; (C₃-C₆)-циклоалкіл, (C₁-C₆)-алкоксикарбоніл, (C₁-C₆)-алкілкарбоніл, (C₁-C₆)-галогеналкіл;

45 за умови, що сума n + t + y + z не перевищує 6;

за умови, що коли p дорівнює 0; X² являє собою NH-SO₂ і X³ являє собою NH;

за умови, що коли n дорівнює 1; t дорівнює 0; y дорівнює 1; z дорівнює 1; X² являє собою NH; E являє собою O; X³ являє собою NH; A² являє собою H і X⁵ являє собою прямий зв'язок; A¹ не є незаміщеним фенолом, галогенофенолом або ізопропенілфенолом;

за умови, що коли n дорівнює 1; t дорівнює 0; u дорівнює 1; z дорівнює 1; X^2 являє собою O; E являє собою O; X^3 являє собою NH; A^1 являє собою (C₆-C₁₂)-арил і X^5 являє собою прямий зв'язок; A^2 являє собою H і R^4 являє собою H, тоді R^5 не є циклогексил; і

за умови, що коли n дорівнює 1; t дорівнює 0; u дорівнює 1; z дорівнює 1; X^2 являє собою NH; E являє собою O; X^3 являє собою CH₂; обидва радикали R^4 і R^5 являють собою водень; A^2 являє собою H і X^5 являє собою прямий зв'язок; тоді A^1 не є незаміщеним фенілом. Певні аспекти даного винаходу включають в себе введення вищезгаданої сполуки пацієнту як частини комбінованої терапії, що включає в себе ферментозамісну терапію (ERT) і терапію малими молекулами (SMT) для зменшення кількості і/або інгібування накопичення субстрату у пацієнта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 1; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 2; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 2; t дорівнює 1; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 3; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 2; u дорівнює 1 і z дорівнює 1.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 1; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 2; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 2; t дорівнює 1; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 3; t дорівнює 0; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 2; u дорівнює 1 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1; t дорівнює 1; u дорівнює 2 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 2; t дорівнює 0; u дорівнює 2 і z дорівнює 0.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1 і X^1 являє собою CR¹.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 0 і X^1 являє собою N.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою O і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою NH і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою CH₂ і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою NH і X^3 являє собою CH₂.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою S; X^2 являє собою NH і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 0; E являє собою O; X^1 являє собою NH і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою NH і X^3 являє собою CO-NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де m дорівнює 1; p дорівнює 0; X^2 являє собою NH-SO₂ і X^3 являє собою NH.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де кожний радикал R^4 і R^5 являє собою (C_1 - C_6)-алкіл або спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкільне кільце або спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкоксільне кільце.

5 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де кожний радикал R^4 і R^5 являє собою метил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкільне кільце.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-циклопропільне кільце.

10 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкоксільне кільце.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою (C_2 - C_6)-алкініл або (C_6 - C_{12})-арил.

15 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою (C_2 - C_9)-гетероарил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою тіофен, тiazол, ізотіазол, фуран, оксазол, ізоксазол, пірол, імідазол, піразол, триазол, піридин, піримідин, піридазин, індол, бензотіазол, бензоізоксазол, бензопіразол, бензоімідазол, бензофуран, бензооксазол або бензоізоксазол.

20 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою (C_2 - C_9)-гетероциклоалкіл.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою піролідиніл, тетрагідрофураніл, дигідрофураніл, тетрагідропіраніл, піраніл, тіопіраніл, азиридиніл, азетидиніл, оксираніл, метилендіоксил, хроменіл, барбітурил, ізоксазолідиніл, 1,3-оксазолідин-3-іл, ізотіазолідиніл, 1,3-тіазолідин-3-іл, 1,2-піразолідин-2-іл, 1,3-піразолідин-1-іл, піперидиніл, тіоморфолініл, 1,2-тетрагідротіазин-2-іл, 1,3-тетрагідротіазин-3-іл, тетрагідротіадіазиніл, морфолініл, 1,2-тетрагідродіазин-2-іл, 1,3-тетрагідродіазин-1-іл, тетрагідроазепініл, піперазиніл, піперизин-2-оніл, піперизин-3-оніл, хроманіл, 2-піролініл, 3-піролініл, імідазолідиніл, 2-імідазолідиніл, 1,4-діоксаніл, 8-азабіцикло[3.2.1]октаніл, 3-азабіцикло[3.2.1]октаніл, 3,8-діазабіцикло[3.2.1]октаніл, 2,5-діазабіцикло[2.2.1]гептаніл, 2,5-діазабіцикло[2.2.2]октаніл, октагідро-2H-піридо[1,2-a]піразиніл, 3-азабіцикло[4.1.0]гептаніл, 3-азабіцикло[3.1.0]гексаніл, 2-азаспіро[4,4]нонаніл, 7-окса-1-аза-спіро[4,4]нонаніл, 7-азабіцикло[2.2.2]гептаніл або октагідро-1H-індоліл.

35 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою бензо-(C_2 - C_9)-гетероциклоалкіл.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою 2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин або 2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^6 являє собою H.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де X^5 являє собою прямий зв'язок.

40 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де X^5 являє собою CR^4R^5 .

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де кожний радикал R^4 і R^5 являє собою метил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкільне кільце.

45 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-циклопропільне кільце.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C_3 - C_{10})-циклоалкоксільне кільце.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою (C_6 - C_{12})-арил.

50 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою (C_2 - C_9)-гетероарил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою піридин.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою (C_2 - C_9)-гетероциклоалкіл.

55 Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою піролідиніл, тетрагідрофураніл, дигідрофураніл, тетрагідропіраніл, піраніл, тіопіраніл, азиридиніл, азетидиніл, оксираніл, метилендіоксил, хроменіл, барбітурил, ізоксазолідиніл, 1,3-оксазолідин-3-іл, ізотіазолідиніл, 1,3-тіазолідин-3-іл, 1,2-піразолідин-2-іл, 1,3-піразолідин-1-іл, піперидиніл, тіоморфолініл, 1,2-тетрагідротіазин-2-іл, 1,3-тетрагідротіазин-3-іл, тетрагідротіадіазиніл, морфолініл, 1,2-тетрагідродіазин-2-іл, 1,3-тетрагідродіазин-1-іл, тетрагідроазепініл,

60

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

60

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

собою O; X^2 являє собою NH; X^3 являє собою CO-NH; кожний з радикалів R^4 і R^5 незалежно являє собою метил; R^6 являє собою водень або метил; A^1 являє собою (C₂-C₉)-гетероарил; X^5 являє собою прямий зв'язок, O або CR⁴R⁵ і A^2 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1, 2 або 3; t дорівнює 0, 1 або 2; y дорівнює 0 або 1; z дорівнює 0, 1 або 2; X^1 являє собою CR¹; m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою NH; X^3 являє собою CO-NH; R^4 і R^5 спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, утворюють спіро-(C₃-C₁₀)-циклоалکیلне кільце або спіро-(C₃-C₁₀)-циклоалкоксильне кільце; R^6 являє собою водень або метил; A^1 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл; X^5 являє собою прямий зв'язок, O або CR⁴R⁵ і A^2 являє собою (C₂-C₉)-гетероарил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де n дорівнює 1, 2 або 3; t дорівнює 0, 1 або 2; y дорівнює 0 або 1; z дорівнює 0, 1 або 2; X^1 являє собою CR¹; m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою NH; X^3 являє собою CO-NH; кожний з радикалів R^4 і R^5 незалежно являє собою метил; R^6 являє собою водень або метил; A^1 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл; X^5 являє собою прямий зв'язок, O або CR⁴R⁵ і A^2 являє собою (C₂-C₉)-гетероарил.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^1 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, де A^2 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I або її фармацевтично прийнятної солі або проліків, вибраних з групи, яка складається з:

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(2,4'-дифторбіфеніл-4-іл)-пропан-2-іл]-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-(1,3-бензотіазол-6-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамату;

1-азабіцикло[3.2.2]нон-4-іл-{1-[5-(4-фторфеніл)-піридин-2-іл]-циклопропіл}-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{1-[3-(4-фторфенокси)-феніл]-циклопропіл}-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{1-[4-(1,3-бензотіазол-5-іл)-феніл]-циклопропіл}-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[1-(4'-фтор-3'-метоксибіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[3-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-оксетан-3-іл]-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{1-[6-(4-фторфенокси)-піридин-2-іл]-циклопропіл}-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[3-(4'-фторбіфеніл-4-іл)пентан-3-іл]-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[2-(4-фторфеніл)-2H-індазол-6-іл]-пропан-2-іл}-карбамату;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[2-(1H-пірол-1-іл)-піридин-4-іл]-пропан-2-іл}-карбамату;

1-(3-етил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-сечовини;

N-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-N'-[1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-етандіаміду;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-(1-{4[(4,4-дифторциклогексил)-окси]-феніл}-циклопропіл)-

карбамату;

1-(4-метил-1-азабіцикло[3.2.2]нон-4-іл)-3-[1-(5-фенілпіридин-2-іл)-циклопропіл]-сечовини;

1-[1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-1-метил-3-(3-метил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-сечовини;

1-[1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-1-метил-3-(3-метил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-

сечовини;

1-{2-[4'-(2-метоксіетокси)біфеніл-4-іл]-пропан-2-іл}-3-(3-метил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-

сечовини;

2-(1-азабіцикло[3.2.2]нон-4-іл)-N-[1-(5-фенілпіридин-2-іл)-циклопропіл]-ацетаміду;

3-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-3-метил-N-(4-метил-1-азабіцикло[3.2.2]нон-4-іл)-бутанаміду;

діаміду N-[2-(біфеніл-4-іл)-пропан-2-іл]-N'-(3-метил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-сірчаної кислоти;

діаміду N-[2-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-пропан-2-іл]-N'-(3-метил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-сірчаної кислоти;

1-(3-бутил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[2-[1-(4-фторфеніл)-1H-піразол-4-іл]-пропан-2-іл]-

сечовини;

1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[4-(4-фторфеніл)-2-метилбут-3-ин-2-іл]-карбамату;

1-(3-бутил-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[4-(4-фторфеніл)-2-метилбут-3-ин-2-іл]-сечовини;

N-[1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нон-4-карбоксаміду;

1-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-4-ил)-пропан-2-іл)-3-(3-метил-1-азабіцикло[3.2.2]нон-3-іл)-

сечовини;

1-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-4-ил)-пропан-2-іл)-3-(4-метил-1-азабіцикло[4.2.2]декан-4-іл)-

сечовини;

1-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-4-ил)-пропан-2-іл)-3-(3-метил-1-азабіцикло[4.2.2]декан-3-іл)-

сечовини; і

1-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-4-ил)-пропан-2-іл)-3-(5-метил-1-азабіцикло[4.2.2]декан-5-іл)-сечовини.

Даний винахід, крім того, стосується фармацевтичної композиції для лікування захворювання або розладу, який опосередковується глюкозилцерамід-синтазою (GCS), або захворювання або розладів, до якого GCS має відношення, у суб'єкта, потребуючого такого лікування, що включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I.

Даний винахід, крім того, стосується способу лікування захворювання або розладу, який опосередковується глюкозилцерамід-синтазою (GCS), або захворювання або розладів, до якого GCS має відношення, у суб'єкта, потребуючого такого лікування, що включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I.

Даний винахід, крім того, стосується способу лікування захворювання або розладу, такого як рак.

Даний винахід, крім того, стосується способу лікування захворювання або розладу, такого як метаболічний розлад.

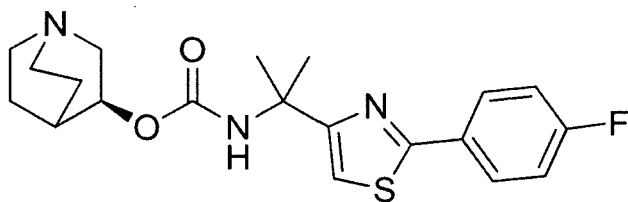
Даний винахід, крім того, стосується способу лікування захворювання або розладу, такого як неврологічне захворювання.

Даний винахід, крім того, стосується способу, де вказане неврологічне захворювання являє собою хворобу Альцгеймера.

Даний винахід, крім того, стосується способу, де вказане неврологічне захворювання являє собою хворобу Паркінсона.

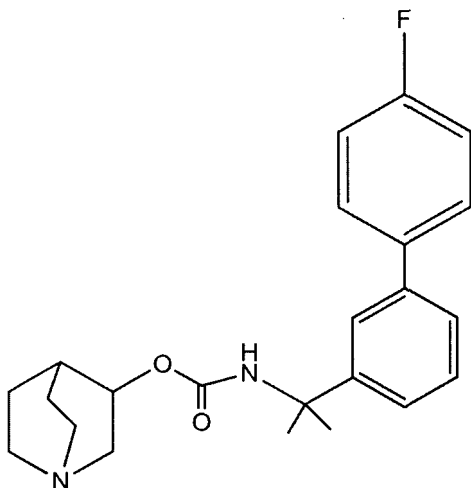
Даний винахід, крім того, стосується способу індукування зниженої каталітичної активності глюкозилцерамід-синтази в клітині *in vitro*, що включає в себе контактування клітини з ефективною кількістю сполуки Формули I.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки Формули I, представленої наступною структурною формулою:



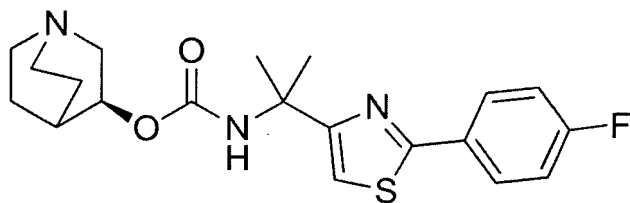
або її фармацевтично прийнятної солі або проліків.

Даний винахід, крім того, стосується сполуки формули I, представленої наступною структурною формулою:

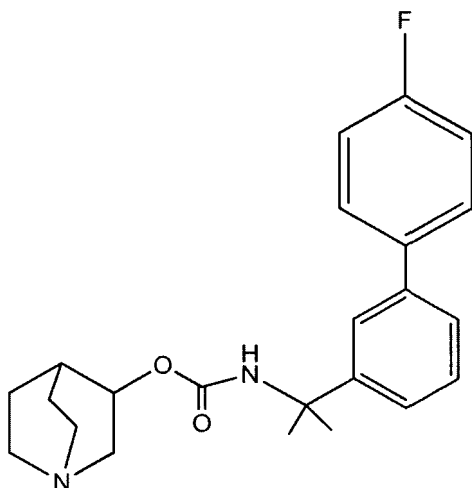


або її фармацевтично прийнятної солі або проліків.

Даний винахід, крім того, стосується способу лікування суб'єкта, з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, причому вказаний спосіб включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I, і в певних варіантах здійснення даного винаходу вказана сполука представлена наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятною сіллю або проліками або



або її фармацевтично прийнятною сіллю або проліками.

5 У певних варіантах здійснення даного винаходу вказана хвороба лізосомного накопичення є наслідком дефекту в глікофінголіпідному шляху.

У певних варіантах здійснення даного винаходу вказана хвороба лізосомного накопичення являє собою хвороби Гоше, Фабрі, GM_1 -гангліозидоз, дефіцит активатора GM_2 , хвороби Тея-Сакса або Сандхоффа.

10 Даний винахід, крім того, стосується способу лікування суб'єкта, з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, причому вказаний спосіб включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I і введення вказаному суб'єкту терапевтично ефективної кількості лізосомального ферменту.

15 У певних варіантах здійснення даного винаходу вказаний лізосомальний фермент являє собою глюкоцереброзидазу, альфа-галактозидазу A, гексозамінідазу A, гексозамінідазу B або GM_1 -гангліозид- β -галактозидазу.

20 У певних варіантах здійснення даного винаходу суб'єкт до проведення лікування має підвищені рівні лізосомального субстрату, а після проведення лікування цей суб'єкт має нижчі об'єднані кількості лізосомального субстрату в сечі і плазмі, ніж суб'єкт, лікування якого проводили або одним лізосомальним ферментом, або однією вказаною сполукою.

У певних варіантах здійснення даного винаходу вказаний субстрат являє собою глоботриаозилцерамід або лізо-глоботриаозилцерамід і їх комбінації.

25 Даний винахід, крім того, стосується способу зменшення активності глюкозилцерамід-синтази (GCS) у суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I - або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією.

30 Даний винахід, крім того, стосується способу зменшення накопичення матеріалу, що проводиться GCS, у суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе введення вказаному суб'єкту ефективної кількості сполуки Формули I, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією.

Даний винахід надає спосіб комбінованої терапії для лікування суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе почергове застосування ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами.

35 Даний винахід надає спосіб комбінованої терапії для лікування суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе одночасне застосування ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами.

При різноманітних варіантах комбінування способів терапії згідно з даним винаходом потрібно розуміти, що терапію малими молекулами можна проводити до, одночасно або після проведення ферментозамісної терапії. Аналогічним чином, ферментозамісну терапію можна проводити до, одночасно або після проведення терапії малими молекулами.

5 Визначення

Термін "фармацевтично прийнятна сіль", що використовується в цьому документі, означає фармацевтично прийнятну кислотно-адитивну сіль або фармацевтично прийнятну основно-адитивну сіль сполуки, розкритої в цьому документі, яку можна застосовувати без істотного небажаного біологічного ефекту (одного або більше), що є наслідком її застосування, або

10 шкідливої взаємодії (одного або більше), також що є наслідком її застосування, з іншим компонентом фармацевтичної композиції, в якому вона може міститися.

Термін "проліки", який використовується в цьому документі, означає фармакологічне похідне молекули вихідної лікарської речовини, яке, для вивільнення з нього активної лікарської речовини, вимагає здійснення деякої біотрансформації (спонтанної або ферментативної), що

15 відбувається з ним в організмі. Наприклад, проліки являють собою варіанти або похідні сполуки Формули I, які мають групи, здатні до відщеплення і/або розщеплення при певних метаболічних умовах, які після відщеплення і/або розщеплення перетворюються в сполуки Формули 1. Такі проліки стають активними *in vivo*, після того як вони піддаються сольволізу або ферментативній деградації. У цьому документі можливо вживання назв "одиничні", "подвійні",

20 "потрійні проліки" і т. д., залежно від кількості стадій біотрансформації, що вимагаються для вивільнення активної лікарської речовини в організмі і кількості функціональних елементів, присутніх в формі, яка є попередником. Пролікарські форми часто мають кращу розчинність і сумісність з тканинами або відрізняються уповільненим вивільненням в організмі ссавця (див. Bundgard, Design of prodrugs, pp. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985 і Silverman, The organic chemistry of drug design and drug action, pp. 352-401, Academic Press, San Diego, Calif., 1992).

25 Проліки, широко відомі в даній галузі, включають в себе добре відомі похідні кислот (такі як, наприклад, складні ефіри, які отримуються по реакції вихідних кислот з відповідним спиртом), аміди (що отримуються по реакції вихідної кислотної сполуки з аміном), основні групи (які прореагували з утворенням ацилованих похідних основ) і т. д. Очевидно, що для підвищення

30 біодоступності можна комбінувати і інші пролікарські похідні, які мають інші особливості, розкриті в цьому документі. Тому кваліфіковані фахівці в даній галузі визнають, що певні сполуки, розкриті в цьому документі і мають вільну аміногрупу, амідну групу, гідроксильну або карбоксильну групу, можуть бути перетворені в проліки. Проліки включають в себе сполуки, які мають залишок амінокислоти або поліпептидний ланцюг, що складається з двох або більше

35 (наприклад, двох, трьох або чотирьох) амінокислотних залишків, які пептидними зв'язками ковалентно приєднані до вільної аміногрупи, гідроксильної групи або карбоксильної кислотної групи сполук, розкритих в цьому документі. До вказаних амінокислотних залишків належать 20 природних амінокислот, які звичайно позначаються трибуквеними символами, а також 4-гідроксипролін, гідроксилізин, десмозин, ізодесмозин, 3-метилгістидин, норвалін, бета-аланін, гамма-аміномасляна кислота, цитрулін, гомоцистеїн, гомосерин, орнітин і метіонінсульфон.

40 Проліки також включають в себе сполуки, які мають карбонатний, карбаматний, амідний або алкільний складноефірний фрагмент, ковалентно зв'язаний з будь-яким з вищезгаданих замісників, розкритих в цьому документі.

Термін "(C₁-C₆)-алкіл", що використовується в цьому документі, означає насичений лінійний або розгалужений вільний радикал, який складається істотно з 1-6 атомів вуглецю і відповідного

45 числа атомів водню. Приклади (C₁-C₆)-алкільних груп включають в себе метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил і т. д. Звичайно, кваліфікований фахівець в даній галузі може легко представити і інші (C₁-C₆)-алкільні групи, корисні для даного винаходу.

Термін "(C₃-C₁₀)-циклоалкіл", що використовується в цьому документі, означає

50 неароматичний насичений вільний радикал, який утворює щонайменше одне кільце, яке складається істотний з 3-10 атомів вуглецю і відповідного числа атомів водню. Самі по собі (C₃-C₁₀)-циклоалкільні групи можуть бути моноциклічними або поліциклічними. Індивідуальні кільця таких поліциклічних груп можуть мати різні види сполук, наприклад, конденсовані, місточкові, спіро і т. д., в доповнення до заміщення ковалентних зв'язків. Приклади (C₃-C₁₀)-циклоалкільних

55 груп включають в себе циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, норборнаніл, біцикло[3.2.1]октаніл, октагідропенталеніл, спіро[4.5]деканіл, циклопропіл, заміщений циклобутилом, циклобутил, заміщений циклопентилом, циклогексил, заміщений циклопропілом, і т. д. Звичайно, кваліфікований фахівець в даній галузі може легко представити і інші (C₃-C₁₀)-циклоалкільні групи, корисні для даного винаходу.

Термін "(C₂-C₉)-гетероциклоалкіл", що використовується в цьому документі, означає неароматичний вільний радикал, що має від 3 до 10 атомів (тобто кільцевих атомів), які утворюють щонайменше одне кільце, де від 2 до 9 кільцевих атомів являють собою атоми вуглецю, а інші кільцеві атоми (один або більше) (тобто гетероатоми в кільці) є вибраними з групи, яка складається з азоту, сірки і кисню. Самі по собі, (C₂-C₉)-гетероциклоалкільні групи можуть бути моноциклічними або поліциклічними. Індивідуальні кільця таких поліциклічних груп можуть мати різні види сполук, наприклад, конденсовані, містчкові, спіро і т. д., в доповнення до заміщення ковалентних зв'язків. Приклади (C₂-C₉)-гетероциклоалкільних груп включають в себе піролідиніл, тетрагідрофураніл, дигідрофураніл, тетрагідропіраніл, піраніл, тіопіраніл, азиридиніл, азетидиніл, оксиранил, метилендіоксил, хроменіл, барбітурил, ізоксазолідиніл, 1,3-оксазолідин-3-іл, ізотіазолідиніл, 1,3-тіазолідин-3-іл, 1,2-піразолідин-2-іл, 1,3-піразолідин-1-іл, піперидиніл, тіоморфолініл, 1,2-тетрагідротіазин-2-іл, 1,3-тетрагідротіазин-3-іл, тетрагідротіадіазиніл, морфолініл, 1,2-тетрагідродіазин-2-іл, 1,3-тетрагідродіазин-1-іл, тетрагідроазепініл, піперазиніл, піперизин-2-оніл, піперизин-3-оніл, хроманіл, 2-піролініл, 3-піролініл, імідазолідиніл, 2-імідазолідиніл, 1,4-діоксаніл, 8-азабіцикло[3.2.1]октаніл, 3-азабіцикло[3.2.1]октаніл, 3,8-діазабіцикло[3.2.1]октаніл, 2,5-діазабіцикло[2.2.1]гептаніл, 2,5-діазабіцикло[2.2.2]октаніл, октагідро-2H-піридо[1,2-a]піразиніл, 3-азабіцикло[4.1.0]гептаніл, 3-азабіцикло[3.1.0]гексаніл, 2-азаспіро[4,4]нонаніл, 7-окса-1-аза-спіро[4,4]нонаніл, 7-азабіцикло[2.2.2]гептаніл, октагідро-1H-індоліл і т. д. Як правило, (C₂-C₉)-гетероциклоалкільна група звичайно є приєднаною до головної структури через атом вуглецю або атом азоту. Звичайно, кваліфікований фахівець в даній галузі може легко представити і інші (C₂-C₉)-гетероциклоалкільні групи, корисні для даного винаходу.

Термін "(C₂-C₉)-гетероарил", що використовується в цьому документі, означає ароматичний вільний радикал, що має від 5 до 10 атомів (тобто кільцевих атомів), які утворюють щонайменше одне кільце, де від 2 до 9 кільцевих атомів являють собою атоми вуглецю, а інші кільцеві атоми (один або більше) (тобто кільцеві гетероатоми) є вибраними з групи, яка складається з азоту, сірки і кисню. Самі по собі, (C₂-C₉)-гетероарильні групи можуть бути моноциклічними і поліциклічними. Індивідуальні кільця таких поліциклічних гетероарильних груп можуть мати різні сполуки, наприклад, конденсовані і т. п., в доповнення до заміщення ковалентного зв'язку. Приклади (C₂-C₉)-гетероарильних груп включають в себе фурил, тієніл, тіазоліл, піразоліл, ізотіазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, піролін, триазоліл, тетразоліл, імідазоліл, 1,3,5-оксадіазоліл, 1,2,4-оксадіазоліл, 1,2,3-оксадіазоліл, 1,3,5-тіадіазоліл, 1,2,3-тіадіазоліл, 1,2,4-тіадіазоліл, піридил, піримідил, піразиніл, піридазиніл, 1,2,4-триазиніл, 1,2,3-триазиніл, 1,3,5-триазиніл, піразоло[3,4-b]піридиніл, цинолініл, птеридиніл, пуриніл, 6,7-дигідро-5H-[1]піридиніл, бензо[b]тіофеніл, 5,6,7,8-тетрагідрохінолін-3-іл, бензоксазоліл, бензотіазоліл, бензізотіазоліл, бензізоксазоліл, бензімідазоліл, тіанафтеніл, ізотіанафтеніл, бензофураніл, ізобензофураніл, ізоіндоліл, індоліл, індолізініл, індазоліл, ізохінолін, хінолін, фталазиніл, хіноксалініл, хіназолініл і бензоксазиніл і т. д. Як правило, (C₂-C₉)-гетероарильна група звичайно приєднується до головної структури за допомогою атома вуглецю; однак кваліфікований фахівець в даній галузі визнає, що до головної структури можуть приєднуватися і визначені інші атоми, наприклад, кільцеві гетероатоми. Звичайно, кваліфікований фахівець в даній галузі може легко надати і інші (C₂-C₉)-гетероарильні групи, корисні для даного винаходу.

Термін "(C₆-C₁₀)-арил", що використовується в цьому документі, означає феніл або нафтил.

Термін "галоген", що використовується в цьому документі, означає фтор, хлор, бром або йод.

Термін "аміно", що використовується в цьому документі, означає вільний радикал, що має атом азоту і від 1 до 2 атомів водню. Сам по собі, термін "аміно", як правило, стосується первинних і вторинних амінів. У зв'язку з цим, в цьому документі і прикладених пунктах формули винаходу прийнято представляти третинний амін загальною формулою RR'^N-, де R і R' являють собою вуглецеві радикали, які можуть бути однаковими або різними. Проте, термін "аміно", як правило, використовується в цьому документі для опису первинного, вторинного або третинного аміну, і кваліфікований фахівець в даній галузі легко зможе їх ідентифікувати відповідно до того контексту, в якому цей термін використовується в даному розкритті.

Термін "комбінована терапія", що використовується в цьому документі, означає лікування пацієнта двома або більше терапевтичними способами (наприклад, застосовуючи ферментозамісну терапію і терапію малими молекулами), здійснюваними по циклічних, які чергуються і/або одночасних схемах. Приклади схем лікування включають в себе, але не обмежуються ними: (1) спочатку ферментозамісну терапію, потім терапію малими молекулами; (2) спочатку терапію малими молекулами, потім ферментозамісну терапію; (3) ферментозамісну терапію, що проводиться одночасно з терапією малими молекулами і (4)

будь-яку комбінацію вищезгаданих варіантів. При необхідності, комбінована терапія може представляти тимчасове перекривання застосування терапевтичних способів залежно від клінічного перебіг даної хвороби накопичення у даного суб'єкта.

Термін "ферментозамісна терапія" або "ERT (enzyme replacement therapy)", що використовується в цьому документі, означає введення пацієнту, потребуючому цього, екзогенно виробленого природного або рекомбінантного ферменту. У випадку хвороби лізосомного накопичення, наприклад, пацієнт накопичує шкідливі рівні субстрату (тобто матеріалу, що зберігається) в лізосомах внаслідок дефіциту або дефекту ферменту, який відповідає за метаболізм даного субстрату, або внаслідок дефіциту активатора ферменту, необхідного для адекватного функціонування ферменту. Ферментозамісну терапію пацієнту проводять для зниження рівнів (тобто для зменшення маси) накопиченого субстрату в зачеплених тканинах. Таблиця 1 надає список хвороб лізосомного накопичення і для кожного такого захворювання вказує відповідний дефіцитний фермент і накопичуваний субстрат. У даній галузі відомі деякі способи ферментозамісної терапії, що застосовуються для лікування хвороб лізосомального накопичення. Відповідно до комбінованої терапії згідно з даним винаходом, лізосомальні ферменти, вказані в Таблиці 1, можна застосовувати для ферментозамісної терапії з метою зниження рівнів відповідного субстрату у пацієнта з поставленим діагнозом відповідної хвороби лізосомного накопичення.

Термін "ефективна кількість", що використовується в цьому документі відносно деякого ферменту або малої молекули, що вводиться суб'єкту при комбінованій терапії згідно з даним винаходом, являє собою кількість, достатню для поліпшення клінічного перебіг хвороби лізосомного накопичення, причому вказане клінічне поліпшення вимірюють по будь-якому з множини визначених параметрів, добре відомих кваліфікованому фахівцеві в даній галузі.

Прийняті скорочення

ACN означає ацетонітрил.

DMF означає N,N-диметилформамід.

DMSO означає диметилсульфоксид.

EtOAc означає етилацетат.

EtOH означає етанол.

Основа Хуніга означає діізопропілетиламін ("DIPEA").

MeOH означає метанол.

NaOH означає гідроксид натрію.

THF означає тетрагідрофуран.

TFA означає трифтороцтову кислоту.

Додаткові особливості і переваги сполук, розкритих в цьому документі, будуть видні з нижченаведеного докладного опису певних варіантів здійснення даного винаходу.

Короткий опис креслень

Фіг. 1 представляє метаболічний шлях можливого синтезу Gb3 і лізо-Gb3. Документовані шляхи синтезу показані чорними стрілками, недокументовані (можливі) шляхи показані сірими стрілками.

Фіг. 2A. Хімічна структура (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамату.

Фіг. 2B. Хімічна структура хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-пропан-2-іл)-карбамату.

Фіг. 3. Концентрація Gb3 в нирці (A) і серці (B) у 12-місячних мишей з хворобою Фабрі, яких лікували, вводячи по 300 мг/кг/день солі L-винної кислоти з [2-(2',3'-дигідробензо[1,4]діоксин-6'-іл)-2-гідрокси-1-піролідин-1-ілметилетил]-амідом (1R,2R)-октанової кислоти ("GZ 638") або по 60 мг/кг/день (S)-2-гідроксисукцинатної солі (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамату ("GZ 452").

Фіг. 4A. Календарний план дослідження, що показує початкове лікування мишей з хворобою Фабрі, почате у віці 3, 8 і 12 місяців, яких лікували, вводячи по 60 мг/кг/день GZ 452. Періодичні забори крові і сечі і випробувань в тестах з гарячою пластиною і активною камерою проводили в дні, вказані на плані.

Фіг. 4B. Концентрація Gb3 в сечі (A) і в плазмі (B) у 3- або 8-місячних мишей з хворобою Фабрі, яким проводили початкове лікування, вводячи по 60 мг/кг/день GZ 452. Лікування лікарським засобом (Rx) продовжували протягом 2 або 4 місяців.

Фіг. 5. Концентрація Gb3 (A) і лізо-Gb3 (B) в тканини нирки 12-місячних мишей з хворобою Фабрі, яких або не лікували (НЛ), або лікували, вводячи по 60 мг/кг/день GZ 452 протягом 4 місяців (SRT - substrate reduction therapy, субстрат-редукуюча терапія).

Фіг. 6А. Календарний план дослідження, який показує мишей з хворобою Фабрі, яких лікували, вводючи альфа-галактозидазу А (1 мг/кг кожні 2 місяці) або вводючи по 60 мг/кг/день GZ 452, або поєднуючи 2 способи лікування, починаючи з 3-місячного віку. Періодичні забори крові і сечі і випробувань в тестах з гарячою пластиною проводили в дні, вказані на плані.

Фіг. 6В. Концентрації Gb3 (А і С) і лізо-Gb3 (С і D) в плазмі (А і С) і в сечі (В і D) у 5-місячних мишей з хворобою Фабрі, яких лікували, вводючи одну альфа-галактозидазу А (ERT - ферментозамісна терапія), вводючи одну сполуку GZ 452 (SRT) або поєднуючи 2 способи (E+S) протягом 2 місяців.

Фіг. 7. Аналіз ізоформ N-зв'язаного ацильного ланцюга Gb3, виділеного з плазми, сечі і нирок миші з хворобою Фабрі.

Фіг. 8. Латентність (час до реакції) дії теплового подразника (гаряча пластина при 55 °C) у 10-місячних мишей з хворобою Фабрі після 7 місяців лікування з введенням альфа-галактозидази А (ERT), GZ 452 (SRT) або при поєднанні двох способів (E+S) в порівнянні з мишами, лікування яких не проводили (НЛ), і мишами дикого типу (ДТ).

Фіг. 9 Глюкозилцерамід (GluCer) і глюкозилсфінгозин (GluSph) значно підвищені в мозку новонароджених мишей K14. Мас-спектрометричний аналіз глюкозил- і галактозилцерамідів показує, що (А) GluCer у мишей K14 (з моделлю хвороби Гоше у новонароджених тварин, також відомою як хвороба Гоше типу 2) був підвищений в 10 разів в порівнянні з мишами дикого типу протягом перших двох тижнів життя, (В) рівні GalCer були протягом цього часу однаковими у мишей K14 і мишей дикого типу, (С) рівні GluSph протягом перших двох тижнів життя у мишей K14 були не менше ніж в 10 разів вищими, ніж у тварин дикого типу того ж віку; рівні GluSph у тварин дикого типу були нижчими порогу детектування (<0,3 нг/мг). Точки на графіку представляють середні значення і планки погрішності (стандартної помилки середнього) для N=4.

Фіг. 10. Системне введення хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-пропан-2-іл)-карбамату (GZ 161) знижує рівні GluCer і GluSph в мозку мишей K14. Мишам K14 і мишам дикого типу, починаючи з дня P4, щодня внутрішньоочеревинно вводили або плацебо, або 5 мг/кг сполуки GZ 161 і на день P10 в мозку аналізували GluCer і GluSph. Тварини, яких лікували сполукою GZ 161, в цей час були безсимптомними. Лікування мишей K14 сполукою GZ 161 знижувало рівні GluCer (А) і GluSph (В) приблизно на 70 і 60%, відповідно. Після лікування рівні обох глікосфінголідів залишалися достовірно підвищеними в порівнянні з мишами дикого типу такого ж віку; генотип був підтверджений посмертним аналізом ДНК. * p <0,05. N = 4 на групу.

Фіг. 11. Системне введення сполуки GZ 161 зменшує фарбування CD68 у всьому мозку мишей K14. Верхні панелі: типові картини імуногістохімічного фарбування CD68, отримані на день P10 в гіпокампі, таламусі, стовбурі мозку і мозочку мишей K14, яких, починаючи з 4-го дня після народження, лікували, щодня внутрішньоочеревинно вводили або плацебо, або сполуку GZ 161, а також у мишей дикого типу. Нижні панелі: кількісні оцінки інтенсивності фарбування в групах, показаних на верхніх знімках, які демонструють, що результатом системного лікування сполукою GZ 161 є значне зменшення числа CD68-позитивних клітин у всіх ділянках мозку. Схоже зменшення спостерігали і в інших структурах, таких як нюхові цибулини і лобова кора (не показано). **p <0,01. N = 4 на групу.

Фіг. 12. Системне введення сполуки GZ 161 зменшує фарбування F4/80 в деяких ділянках мозку мишей K14. Верхні панелі: типові картини імуногістохімічного фарбування CD68, отримані на день P10 в гіпокампі, таламусі, стовбурі мозку і мозочку мишей K14, яких, починаючи з 4-го дня, лікували, щодня внутрішньоочеревинно вводили або плацебо, або сполуку GZ 161, а також у мишей дикого типу. Нижні панелі: кількісні оцінки інтенсивності фарбування в групах, показаних на верхніх знімках, які демонструють, що результатом системного лікування сполукою GZ 161 є значне зменшення числа F4/80-позитивних клітин в таламусі і лобовій корі. Схоже зменшення спостерігали і в інших структурах, таких як нюхові цибулини і лобова кора; в обох структурах спостерігалися статистично достовірні відмінності (не показано). * p <0,05. N = 4 на групу.

Фіг. 13. Системне введення сполуки GZ 161 зменшує гліоз у мишей K14. Верхні панелі: типові картини імуногістохімічного фарбування GFAP, отримані на день P10 в гіпокампі, таламусі, стовбурі мозку і мозочку мишей K14, яких, починаючи з 4-го дня, лікували, щодня внутрішньоочеревинно вводили або плацебо, або сполуку GZ 161, а також у мишей дикого типу. Нижні панелі: кількісні оцінки інтенсивності фарбування в групах, показаних на верхніх знімках, які демонструють, що результатом системного лікування сполукою GZ 161 є значне зменшення числа GFAP-позитивних клітин в гіпокампі і мозочку; в обох структурах спостерігалися статистично достовірні відмінності (на показано).

Фіг. 14. Системне введення сполуки GZ 161 збільшує медіану тривалості життя мишей K14. Мишам K14 щодня, починаючи з 4-го дня, внутрішньоочеревинно ін'єктували або плацебо, або сполуку GZ 161, або проводили комбіноване лікування, яке складалося з трьох інтрацеребровентрикулярних (ICV) ін'єкцій rhGC, виконаних в дні P1, 2, 3, спільно з щоденними внутрішньоочеревинними ін'єкціями сполуки GZ 161, починаючи з дня P4. У мишей, що отримували плацебо, медіана тривалості життя становила 15 днів (N = 25); у мишей, яких лікували сполукою GZ 161, медіана тривалості життя становила 18 днів (N = 12; $p < 0,0001$ в порівнянні з введенням плацебо); у мишей, яким спільно вводили GZ 161 і rhGC медіана тривалості життя становила 26 днів (N = 13).

Фіг. 15. Ймовірно, сполука GZ 161 проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Системне введення (по 20 мг/кг/день в кормі) сполуки GZ 161 вагітним мишам дикого типу зменшує кількість GluCer в гомогенатах цілого мозку новонароджених мишей (на день P0). N = 7; $p < 0,0001$.

Фіг. 16. Лікування мишей K14 сполукою GZ 161, що вводиться внутрішньоматково, впливало мінімальним чином на виживаність. У мишей K14, яким щодня, починаючи з дня P4, внутрішньоочеревинно вводили плацебо, медіана тривалості життя становила 14 днів (N = 13). Системне введення (по 20 мг/кг/день в кормі) сполуки GZ 161 вагітним мишам K14, а потім щоденно, починаючи з дня P0, внутрішньоочеревинне введення сполуки GZ 161 (5 мг/кг) новонародженим продовжувало тривалість життя до 19 днів (N = 13) - результат, аналогічний отриманому при лікуванні новонароджених щурів зі щоденним системним введенням 5 мг/кг сполуки GZ 161, починаючи з дня P4 (N = 12).

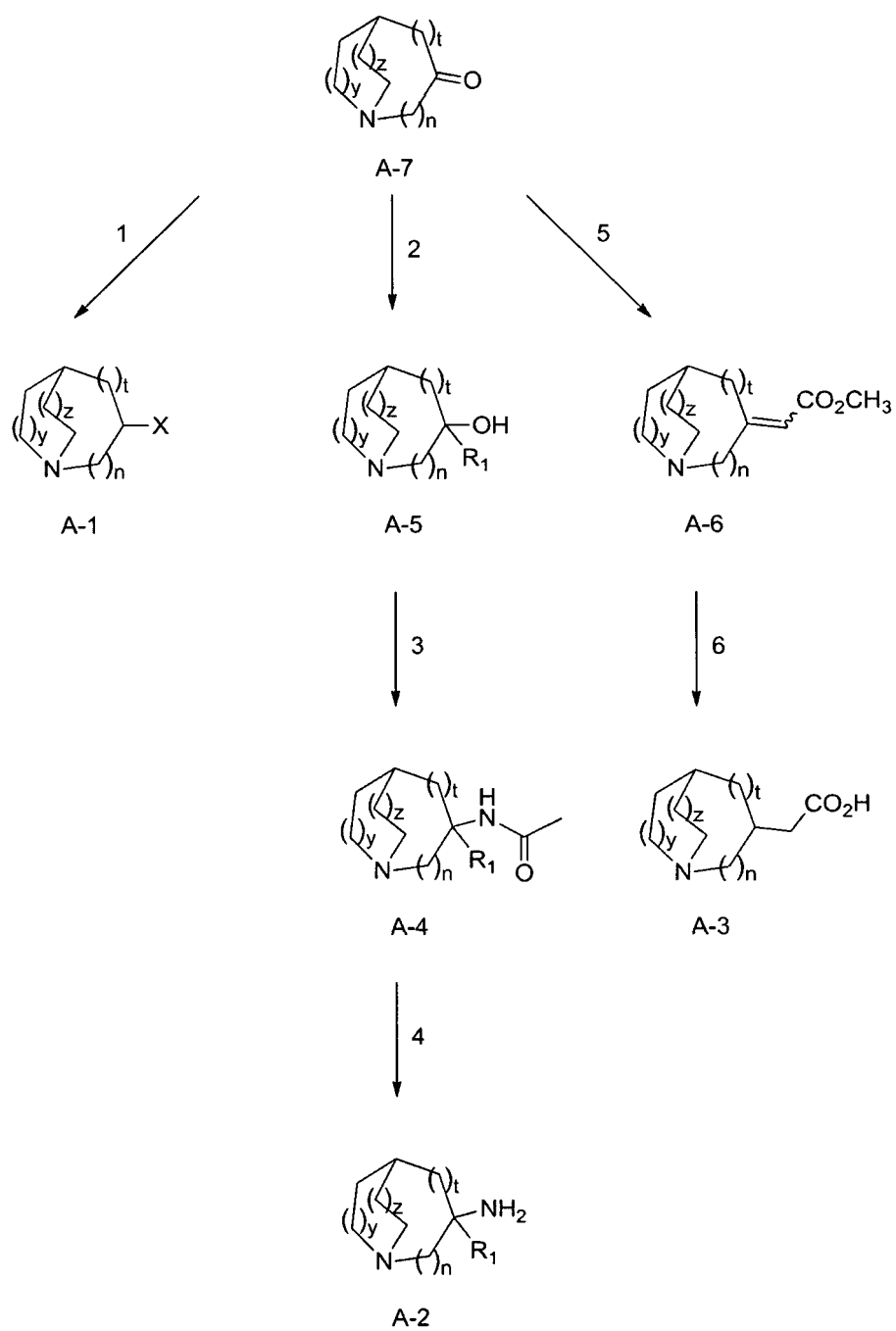
Фіг. 17. Рівні Gb3 в тканини нирки 12-місячних самців і самиць щурів з хворобою Фабрі, яких лікували сполуками GZ 452, GZ 161 і GZ 638. Лікування мишей починали приблизно в 8-місячному віці і продовжували протягом 4 місяців, вводячи 60 мг/кг/день GZ 452, 120 мг/кг/день GZ 452, 20 мг/кг/день GZ 161, 300 мг/кг/день GZ 638, паралельно з контрольними групами мишей дикого типу і мишей, лікування яких не проводили.

Докладний опис

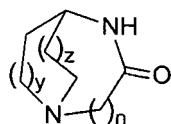
Хоч в даному розділі будуть описані конкретні варіанти здійснення даного розкриття з посиланнями на препаративні процедури і схеми, потрібно розуміти, що такі варіанти здійснення даного винаходу приведені тільки для прикладу і є лише ілюстраціями не більше ніж малої кількості з багатьох можливих конкретних варіантів здійснення даного винаходу, які можуть представляти сфери застосування принципів даного розкриття. Кваліфікованим фахівцям в даній галузі техніки будуть очевидні можливості різноманітних змін і модифікацій, корисних для даного винаходу, які вважаються такими, що входять в об'єм даного винаходу і відповідають його суті, як додатково визначено в прикладених пунктах формули винаходу.

Якщо не визначено інакше, всі технічні і наукові терміни, що використовуються в цьому документі, мають значення, що розуміється фахівцем із звичайною кваліфікацією в тій галузі, до якої належить дане розкриття. Хоч при практичному застосуванні і випробуваннях можна використовувати і інші сполуки і методики, в контексті нижченаведених препаративних процедур і схем в даному розділі описані певні переважні методики.

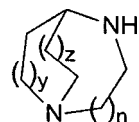
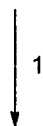
ПРЕПАРАТИВНА ПРОЦЕДУРА А



ПРЕПАРАТИВНА ПРОЦЕДУРА В

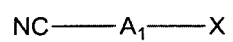


B-2

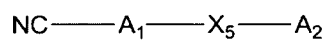
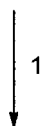


B-1

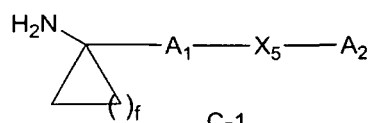
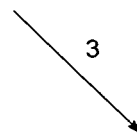
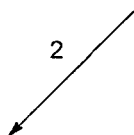
ПРЕПАРАТИВНА ПРОЦЕДУРА С



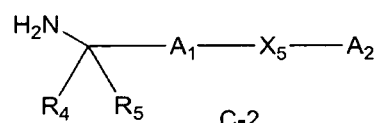
C-4



C-3

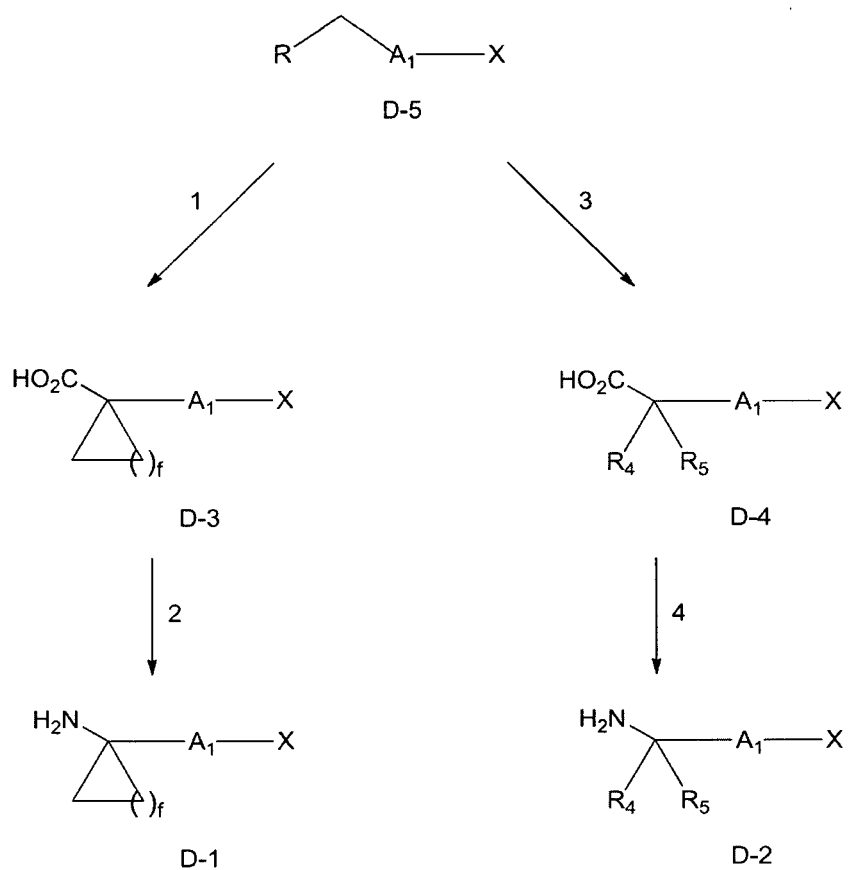


C-1

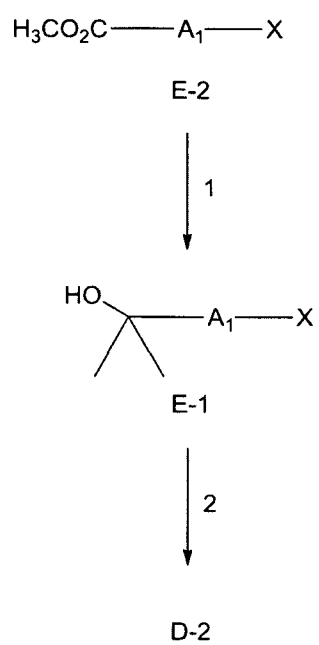


C-2

ПРЕПАРАТИВНА ПРОЦЕДУРА D

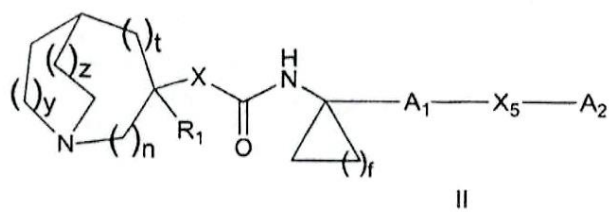
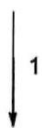


ПРЕПАРАТИВНА ПРОЦЕДУРА E

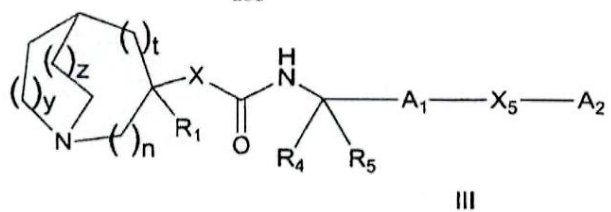


CXEMA 1

A1 a6o I A-2

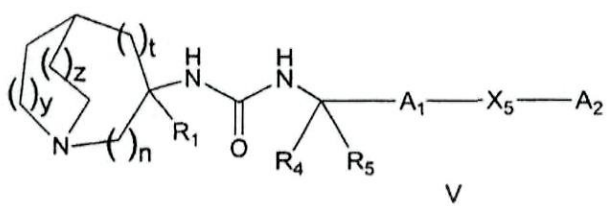
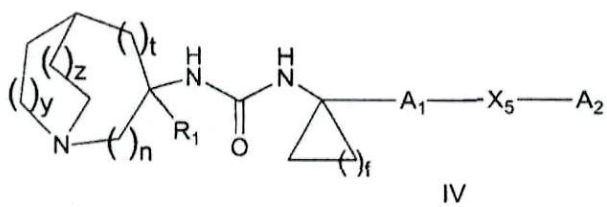
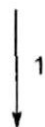


a6o

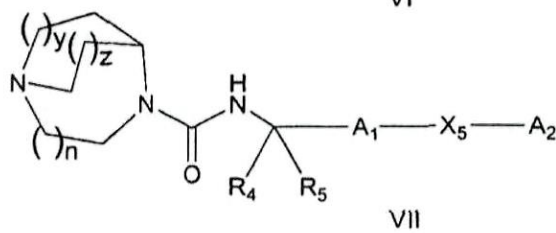
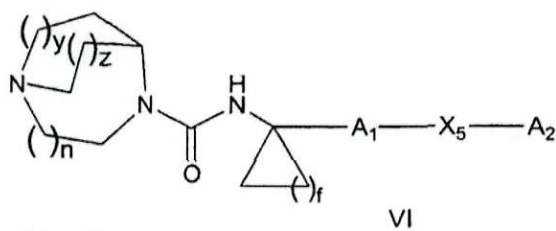


CXEMA 2

A1 a6o A-2 a6o B-1

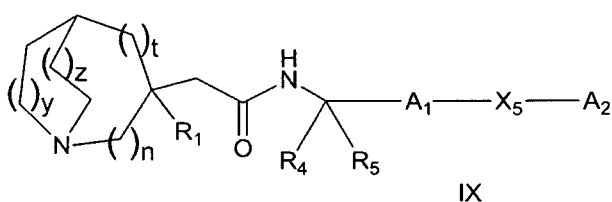
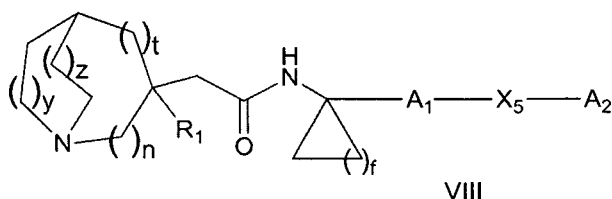
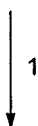


a6o



CXEMA 3

A-3



У реакції 1 Препаративної процедури А сполуку Формули А-7 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-1, де Х являє собою ОН, відновлюючи А-7 деяким відновником (переважно, літійалюмінійгідридом) в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран. Реакційну суміш перемішують при температурі від 0 °С до кімнатної температури протягом часу від приблизно 15 хвилин до приблизно 2 годин (переважно, приблизно 30 хвилин). Як альтернатива, сполуку Формули А-7 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-1, де Х являє собою ОН, відновлюючи А-7 воднем під тиском приблизно 1 атм. в присутності каталізатора (переважно, оксиду платини) і полярного розчинника, такого як метанол або етанол, протягом 2-6 годин (переважно, 4 годин). Як альтернатива, сполуку Формули А-7 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-1, де Х являє собою NH, проводячи реакцію А-7 з гідрохлоридом гідроксиламіну і ацетатом натрію в полярному розчиннику, такому як етанол, метанол, ізопропанол (переважно, в ізопропанолі). Реакційну суміш перемішують при температурі 50-80 °С протягом 2-7 годин (переважно, 3 годин). Після цього сполуку, утворену, як указано вище, діючи відновником, перетворюють в сполуку Формули А-1 - переважно, застосовуючи металевий натрій в полярному протонному розчиннику, такому як етанол, метанол, пропанол (переважно, в н-пропанолі). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при 50-80 °С (переважно, при температурі кип'ятіння розчинника зі зворотним холодильником).

У реакції 2 Препаративної процедури А сполуку Формули А-7 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-5, де R¹, n і z є такими, як визначено вище, додаючи розчин R¹-магнійброміду в простому ефірі до розчину А-7 в апротонному розчиннику, такому як простий ефір, при температурі від приблизно -60 °С до приблизно -90 °С (переважно, приблизно при -78 °С) протягом часу від приблизно 1 години до приблизно 4 годин (переважно, приблизно 2 години). Як альтернатива, сполука Формули А-7 може реагувати з R¹-літієм, утворюючи сполуку Формули А-5.

У реакції 3 Препаративної процедури А, сполуку Формули А-5 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-4, де R¹, n і z є такими, як визначено вище, обробляючи А-5 сильною кислотою (переважно, сірчаною кислотою) в присутності ацетонітрилу. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі.

У реакції 4 Препаративної процедури А, сполуку Формули А-4 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-3, де R¹, n і z є такими, як визначено вище, обробляючи А-4 кислотою (переважно, хлористоводневою кислотою). Реакційну суміш перемішують при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом часу від 18 годин до 72 годин (переважно, 24 години) і підлугуюють до рН 8, обробляючи неорганічною основою, такою як гідроксид натрію, у водному розчині.

У реакції 5 Препаративної процедури А, сполуку Формули А-7 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-6, де R^1 , n і z є такими, як визначено вище, проводячи реакцію А-7 з ілідом трифенілфосфонію і отримуючи відповідну алкенову сполуку Формули А-6. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі.

5 У реакції 6 Препаративної процедури А, сполуку Формули А-6 перетворюють у відповідну сполуку Формули А-3, де R^1 , n і z є такими, як визначено вище, відновлюючи А-6 воднем під тиском приблизно 1 атм. в присутності каталізатора (переважно, паладію на вугіллі) і полярного розчинника, такого як метанол, етанол або етилацетат. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом часу від приблизно 2 годин до приблизно 24 годин (переважно, приблизно 18 годин). Після цього утворену таким шляхом сполуку обробляють основою (переважно, гідроксидом літію) в суміші розчинника, такого як тетрагідрофуран, метанол і вода, отримуючи сполуку А-3. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі.

10 У реакції 1 Препаративної процедури В сполуку Формули В-2 перетворюють у відповідну сполуку Формули В-1, відновлюючи В-2 деяким відновником (переважно, літіїалюмініїгідридом) в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран. Реакційну суміш перемішують при температурі від 0 °С до кімнатної протягом часу від приблизно 15 хвилин до приблизно 2 годин (переважно, приблизно 30 хвилин).

У реакції 1 Препаративної процедури С сполуку С-4 перетворюють у відповідну сполуку Формули С-3, де X являє собою бром або хлорид, проводячи реакцію С-4 з бороною 20 кислотою в присутності каталізатора, переважно, 1,1'-біс-(дифенілфосфіно)фероцену/дихлориду паладію(II) і карбонату калію. Реакцію проводять в мікрохвильовій печі в суміші диметоксietану і води при температурі від приблизно 130 °С до приблизно 170 °С (переважно, приблизно при 150 °С) протягом часу від приблизно 15 хв. до приблизно 1 години (переважно, приблизно 30 хв.). Як альтернатива, реакцію можна проводити, застосовуючи розчинник, такий як діоксан, і перемішуючи протягом ночі при 100 °С при 25 звичайному нагріванні.

У реакції 2 Препаративної процедури С сполуку С-3 перетворюють у відповідну сполуку Формули С-1, де f дорівнює 1-8 і $A1$, $X5$ і $A2$ є такими, як визначено вище, додаючи етилмагнійбромід по краплях до суміші С-3 і ізопропоксиду титану в простому ефірі. Реакційну 30 суміш перемішують при температурі від приблизно -50 °С до приблизно -90 °С (переважно, приблизно при -70 °С). Суміші, отримані в результаті цього, дають можливість нагріватися приблизно до 20-30 °С (переважно, приблизно до 25 °С) і додатково перемішуватися протягом часу від приблизно 30 хвилин до приблизно 2 годин (переважно, приблизно 1 годину). Потім до суміші по краплях додають діетилефірат трифториду бору при температурі від приблизно 20 °С 35 до приблизно 30 °С (переважно, приблизно при 25 °С).

У реакції 3 Препаративної процедури С сполуку С-3 перетворюють у відповідну сполуку Формули С-2, де $A1$, $X5$ і $A2$ є такими, як визначено вище, спочатку перемішуючи суспензію хлориду церію (III) в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, при кімнатній 40 температурі протягом часу від приблизно 30 хвилин до приблизно 2 годин (переважно, приблизно 1 годину). Суспензію, отриману в результаті цього, охолоджують до температури від приблизно -60 °С до приблизно -90 °С (переважно, приблизно -78 °С) і додають літіїорганічну сполуку (переважно, метиллітій) в ефірному розчині. Церійорганічному комплексу, що виходить в результаті цього, дають можливість формуватися протягом часу від приблизно 30 хвилин до приблизно 2 годин (переважно, приблизно 1 годину), після чого додають С-3 в апротонному 45 розчиннику, такому як тетрагідрофуран. Потім суміш, отриману в результаті цього, нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом часу від приблизно 16 годин до приблизно 20 годин (переважно, приблизно 18 годин).

У реакції 1 Препаративної процедури D сполуку D-5, де R являє собою CO_2Et або CN , а X являє собою бром або хлорид, перетворюють у відповідну сполуку Формули D-3, проводячи 50 реакцію D-5 з дигалогідним алкілом, таким як 1,2-диброметан. Після цього утворену таким шляхом сполуку обробляють неорганічною основою, такою як гідроксид літію або гідроксид калію, в суміші розчинника, такого як тетрагідрофуран, метанол, гліколь і вода, отримуючи сполуку D-3, де f дорівнює 1-8. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при температурі від 25 °С до 130 °С. Як альтернатива, для утворення відповідної сполуки Формули D-3, де X являє собою $X5-A2$, сполука D-5 повинна спочатку прореагувати по процедурі, що обговорювалася 55 вище для реакції 1 Препаративної процедури С.

У реакції 2 Препаративної процедури D сполуку D-3 перетворюють у відповідну сполуку Формули D-1, проводячи реакцію D-3 з основою, такою як триетиламін, і 60 дифенілфосфорилазидом в апротонному розчиннику, такому як толуол. Реакційну суміш нагрівають до температури в діапазоні 80-110 °С (переважно, при 110 °С) протягом часу від 15

хв. до 1 години (переважно, 30 хвилин). Утворену таким шляхом проміжну сполуку потім обробляють трет-бутиловим спиртом протягом ночі при 60-110 °С (переважно, при 90 °С). Після цього утворений таким шляхом карбамат перетворюють у відповідну сполуку Формули D-1, де f дорівнює 1-8, обробляючи її в кислих середовищах, використовуючи, переважно, трифтороцтову кислоту в дихлорметані, при кімнатній температурі протягом часу від 30 хв. до 5 годин (переважно, 2 години).

У реакції 3 Препаративної процедури D сполуку D-5, де R являє собою CO₂Et або CN, а X являє собою бром або хлорид, перетворюють у відповідну сполуку Формули D-4, проводячи реакцію D-5 з галоїдним алкілом, таким як метилйодид (MeI). Після цього утворену таким шляхом сполуку обробляють неорганічною основою, такою як гідроксид літію або гідроксид калію, в суміші розчинника, такого як тетрагідрофуран, метанол, гліколь і вода, отримуючи сполуку D-4. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при температурі 25-130 °С. Як альтернатива, для утворення відповідної сполуки Формули D-4, де X являє собою X⁵-A², сполука D-5 повинна спочатку прореагувати згідно з процедурою, що обговорювалася вище для реакції 1 Препаративної процедури C.

У реакції 4 Препаративної процедури D сполуку D-4 перетворюють у відповідну сполуку Формули D-2, проводячи реакцію D-4 з основою, такою як триетиламін, і дифенілфосфорилазидом в апротонному розчиннику, такому як толуол. Реакційну суміш нагрівають до температури 80-110 °С (переважно, при 110 °С) протягом часу від 15 хв. до 1 години (переважно, 30 хвилин). Утворену таким шляхом проміжну сполуку потім обробляють трет-бутиловим спиртом протягом ночі при 60-110 °С (переважно, при 90 °С). Після цього утворений таким шляхом карбамат перетворюють у відповідну сполуку Формули D-1, обробляючи її в кислих середовищах, використовуючи, переважно, трифтороцтову кислоту в дихлорметані при кімнатній температурі протягом часу від 30 хв. до 5 годин (переважно, 2 години).

У реакції 1 Препаративної процедури E сполуку Формули E-2, де X являє собою бромід або хлориди, перетворюють у відповідну сполуку Формули E-1, проводячи реакцію E-2 з метилмагнійбромідом в простому ефірі при температурі від приблизно -60 °С до приблизно -90 °С (переважно, приблизно при -78 °С) протягом часу від приблизно 30 хв. до приблизно 3 годин (переважно, приблизно 2 години). Як альтернатива, для утворення відповідної сполуки Формули E-1, де X являє собою X⁵-A², сполука E-2 повинна спочатку прореагувати згідно з процедурою, що обговорювалася вище для реакції 1 Препаративної процедури C.

У реакції 2 Препаративної процедури E сполуку Формули E-1 перетворюють до відповідної сполуки D-2, обробляючи E-1 сильною кислотою (переважно, сірчаною кислотою) в присутності хлорацетонітрилу. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Після цього утворену таким шляхом сполуку обробляють тіосечовиною в полярному протонному розчиннику, такому як етанол, протягом ночі при 80 °С для утворення відповідної сполуки Формули D-2. Як альтернатива, E-1 обробляють азидом натрію і трифтороцтовою кислотою в апротонному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі від -10 °С до кімнатної (переважно, при 0 °С). Утворену таким шляхом сполуку відновлюють в присутності трифенілфосфіну в розчині тетрагідрофурану і води, утворюючи відповідну сполуку Формули D-2. Реакційну суміш перемішують при температурі 25-80 °С (переважно, при кімнатній температурі) протягом часу від 2 годин до 24 годин (переважно, 18 годин).

У реакції 1 Схеми 1 сполуку Формули A-1 або A-2 перетворюють у відповідні сполуки Формули II, де f дорівнює 1-8, або Формули III, відповідно, додаючи трифосген до суспензії C-1 або C-2 і триетиламіну в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом приблизно 5-20 хвилин (переважно, приблизно 15 хвилин) і додають невелику кількість простого ефіру. Відфільтровують триетиламонійну сіль, що утворилася. Окремо, при 0 °С або кімнатній температурі, до суспензії A-1 або A-2, де X являє собою OH або NH, в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, додають гідрид натрію. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом приблизно 5-20 хвилин (переважно, приблизно 15 хвилин) і по краплях додають розчин ізоціанату в суміші тетрагідрофурану з простим ефіром, отриманий як описано вище. Як альтернатива, сполуку Формули II і III можна отримувати, проводячи реакцію сполуки D3 або D4 з A-1 і A-2 в присутності основи, такої як триетиламін, і дифенілфосфорилазиду в апротонному розчиннику, такому як толуол, як описано в процедурі, що обговорювалася вище для реакції 4 Препаративної процедури D.

У реакції 1 Схеми 2 сполуки Формули A-1, A-2 або B-1 перетворюють у відповідні сполуки Формули IV, V, VI і VII, де f дорівнює 1-8, відповідно, додаючи трифосген до суспензії C-1, C-2, D-1 або D-2 і триетиламіну в апротонному розчиннику, такому як тетрагідрофуран або толуол.

Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом приблизно 5-20 хвилин (переважно, приблизно 15 хвилин) і додають невелику кількість простого ефіру. Після цього А-1 або А-2, де Х являє собою NH, додають до розчину ізоціанату, отриманого як описано вище, і реакційну суміш перемішують при температурі 25-100 °C (переважно, при кімнатній температурі) приблизно протягом 2-24 годин (переважно, 18 годин).

У реакції 1 Схеми 3 сполуку Формули А-3 перетворюють у відповідні сполуки Формули VIII, де f дорівнює 1-8, і Формули IX, відповідно, проводячи реакцію А3 з С1, С-2, D-1 або D-2 шляхом пептидної конденсації з використанням карбодіімідного зв'язувального засобу, такого як 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодіімід, і 1-гідроксибензотриазолу або гексафторфосфату 2-(1H-7-азабензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметилуронію в розчиннику, такому як тетрагідрофуран або диметилформамід. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі.

Хоча в даному розділі будуть описані конкретні варіанти здійснення даного розкриття з посиланнями на препаративні процедури і схеми, потрібно розуміти, що такі варіанти здійснення даного винаходу приведені тільки для прикладу і є лише ілюстраціями не більше ніж малої кількості з багатьох можливих конкретних варіантів здійснення даного винаходу, які можуть представляти сфери застосування принципів даного розкриття. Кваліфікованим фахівцям в даній галузі техніки будуть очевидні можливості різноманітних змін і модифікацій, корисних для даного винаходу, які потрібно вважати як такі, що входять в об'єм даного винаходу і відповідають його суті, як додатково визначено в прикладених пунктах формули винаходу.

Якщо не визначено інакше, всі технічні і наукові терміни, що використовуються в цьому документі, мають значення, що розуміється фахівцем із звичайною кваліфікацією в тій галузі, до якої належить дане розкриття. Хоч при практичному застосуванні і випробуваннях можна використовувати і інші сполуки і методики, в контексті нижченаведених препаративних процедур і схем в даному розділі описані певні переважні методики.

Всі фармацевтично прийнятні солі, проліки, таутомери, гідрати і сольвати сполук, розкритих в цьому документі, також входять в об'єм даного розкриття.

Розкриті в цьому документі сполуки, які по свій природі є основними, звичайно здатні утворювати множину різних солей з різноманітними неорганічними і/або органічними кислотами. Хоч такі солі, як правило, є фармацевтично прийнятними для введення тваринам і людям, на практиці часто бажано спочатку виділяти сполуку з реакційної суміші у вигляді фармацевтично неприйнятної солі, а потім просто перетворювати її назад у вільну основу цієї сполуки, обробляючи лужним реагентом, після чого перетворювати цю вільну основу в фармацевтично прийнятну кислотно-адитивну сіль. Кислотно-адитивні солі основних сполук можна легко отримувати, застосовуючи традиційні технічні прийоми - наприклад, обробляючи основну сполуку істотно еквівалентною кількістю вибраної мінеральної або органічної кислоти в середовищі водного розчинника або у відповідному органічному розчиннику, такому як, наприклад, метанол або етанол. Після обережного випарювання розчинника отримують бажану тверду сіль.

Кислоти, які можна застосовувати для отримання фармацевтично прийнятних кислотно-адитивних солей основних сполук, є такими, які утворюють нетоксичні кислотно-адитивні солі, тобто солі, що містять фармакологічно прийнятні аніони, такі як хлоридні, бромідні, йодидні, нітратні, сульфатні або бісульфатні, фосфатні або кислі фосфатні, ацетатні, лактатні, цитратні або кислі цитратні, тартратні або бітартратні, сукцинатні, малеатні, фумаратні, глюконатні, сахаратні, бензоатні, метансульфонатні і памоатні [тобто 1,1'-метиле-бис-(2-гідрокси-3-нафтоатні)] солі.

Розкриті в цьому документі сполуки, які по свій природі є кислотними (наприклад, містять COOH або тетразольний фрагмент), як правило, здатні утворювати множину різних солей з різноманітними неорганічними і/або органічними основами. Хоч такі солі, як правило, є фармацевтично прийнятними для введення тваринам і людям, на практиці часто бажано спочатку виділяти сполуку з реакційної суміші у вигляді фармацевтично неприйнятної солі, а потім просто перетворювати її назад у вільну кислоту цієї сполуки, обробляючи кислотним реагентом, після чого перетворювати цю вільну кислоту в фармацевтично прийнятну основно-адитивну сіль. Ці основно-адитивні солі можна легко отримувати, застосовуючи традиційні технічні прийоми - наприклад, обробляючи відповідні кислотні сполуки водним розчином, що містить бажані фармакологічно прийнятні катіони, і потім досуха випарюючи розчин, отриманий в результаті цього (переважно, при зниженому тиску). Як альтернатива, їх також можна отримувати, змішуючи розчини кислотних сполук в нижчих спиртах з алкоксидом бажаного лужного металу, а потім так само, як описано вище, досуха випарюючи розчин, отриманий в

результаті. У обох випадках, для забезпечення повноти реакції і максимального виходу продукту у вигляді бажаної твердої солі рекомендується застосовувати стехіометричні кількості реагентів.

Основи, які можна застосовувати для отримання фармацевтично прийнятних основно-адитивних солей основних сполук, є такими, які можуть утворювати нетоксичні основно-адитивні солі, тобто солі, що містять фармацевтично прийнятні катіони, такі як катіони лужних металів (наприклад, калію і натрію), катіони лужноземельних металів (наприклад, кальцію і магнію), амоній або інші водорозчинні аміно-адитивні солі, такі як N-метилглюкамін-(меглумін), нижчі алканоламонійні катіони і інші такі основи органічних амінів.

У об'єм даного розкриття входять і ізотопно мічені сполуки. Термін "ізотопно мічені сполуки", що використовується в цьому документі, стосується розкритих в цьому документі сполук, включаючи їх фармацевтичні солі і проліки (кожне з яких є таким, як описано в цьому документі), в яких один або більше з атомів замінений атомом, що має атомну масу або масове число, відмінне від тієї атомної маси або того масового числа, яке звичайно знаходять в природі. Приклади ізотопів, які можна вводити в сполуки, розкриті в цьому документі, включають в себе ізотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, фтору і хлору, такі як ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F і ^{36}Cl , відповідно.

Ізотопне мічення сполук, розкритих в цьому документі, дає можливість застосовувати їх в дослідженнях тканинного розподілу лікарських засобів і/або субстратів. Завдяки легкості їх отримання і детектування, особливо переважні в цьому відношенні сполуки, мічених тритієм (^3H) і вуглецем-14 (^{14}C). Крім того, заміна більш важкими ізотопами, такими як дейтерій (^2H), може надати і певні терапевтичні переваги (наприклад, більш довгий період напівелімінації *in vivo* або знижені вимоги до дозування) і тому може бути переважною в деяких обставинах. Ізотопно мічені сполуки, розкриті в цьому документі, включаючи їх фармацевтичні солі і проліки, можна отримувати будь-якими засобами, відомими в даній галузі техніки.

У межах об'єму даного розкриття знаходяться стереоізомери (наприклад, цис- і транс-ізомери) і всі оптичні ізомери сполуки, розкритої в цьому документі (наприклад, R- і S-енантіомери), а також рацемічні, діастереомерні і інші суміші таких ізомерів.

Сполуки, солі, проліки, гідрати і сольвати, розкриті в цьому документі, можуть існувати в декількох таутомерних формах, включаючи енольну і імінну форму, а також кето- і енамінну форму і їх геометричні ізомери і суміші. У розчині таутомери існують у вигляді сумішей набору таутомерних форм. У твердій формі звичайно переважає один таутомер. Але навіть якщо може бути описаний лише один таутомер, в межах об'єму даного розкриття знаходяться всі таутомери.

У межах об'єму даного розкриття знаходяться і атропоізомери. Атропоізомерами називають сполуки, які можна розділити на ротаційно обмежені ізомери.

Дане розкриття також надає фармацевтичні композиції, що містять щонайменше одну розкриту в цьому документі сполуку і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій. Вказаний фармацевтично прийнятний носій може являти собою будь-який такий носій, відомий в даній галузі техніки, включаючи ті, які описані, наприклад, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., (A. R. Gennaro edit. 1985). Фармацевтичні композиції сполук, розкритих в цьому документі, можна виготовляти традиційними засобами, відомими в даній галузі техніки, включаючи, наприклад, змішування щонайменше однієї розкритої в цьому документі сполуки з фармацевтично прийнятним носієм.

Розкриті в цьому документі фармацевтичні композиції можна застосовувати для тварини або людини. Зокрема, розкриту в цьому документі сполуку можна вводити в рецептуру фармацевтичної композиції для перорального, букального, парентерального (наприклад, внутрішньовенного, внутрішньом'язового або підшкірного), місцевого, ректального або інтраназального введення або для введення за допомогою інгаляції або інсуфляції.

Сполуки, розкриті в цьому документі, можна також надавати у вигляді препаратів для пролонгованої доставки, що виготовляються за допомогою способів, добре відомих фахівцям із звичайною кваліфікацією в даній галузі техніки. Приклади таких препаратів можна знайти в патентах США №№ 3119742, 3492397, 3538214, 4060598 і 4173626.

Фармацевтична композиція для перорального введення може приймати форму, наприклад, таблетки або капсули, які виготовляються традиційними засобами з фармацевтично прийнятними ексципієнтами (одним або більше), такими як зв'язувальні засоби (наприклад, пептизований кукурудзяний крохмаль, полівінілпіролідон або гідроксипропілметилцелюлоза); наповнювач (наприклад, лактоза, мікрокристалічна целюлоза або фосфат кальцію); мастильний засіб (наприклад, стеарат магнію, тальк або силікагель); дезінтегрант (наприклад, картопляний крохмаль або натрієва сіль гліколяту крохмалю); і/або змочувальний засіб

(наприклад, лаурилсульфат натрію). Застосовуючи способи, добре відомі в даній галузі техніки, на таблетки можна наносити покриття. Рідкі препарати для перорального введення можуть приймати форму, наприклад розчину, сиропу або суспензії або вони можуть бути представлені у вигляді сухого продукту для розведення водою або іншою відповідною основою перед використанням. Такі рідкі препарати можна виготовляти традиційними засобами з фармацевтично прийнятними добавками (однією або більше), такими як суспензуючий засіб (наприклад, сироп сорбіту, метилцелюлоза або гідрогенізовані харчові жири); емульгатор (наприклад, лецитин або камедь акації); неводні основи (наприклад, мигдалева олія, масляний складний ефір або етиловий спирт); і/або консервант (наприклад, метил- або пропіл-п-гідроксибензоати або сорбінова кислота).

Для букального застосування композиція може приймати форму таблеток або льодяників для розсмоктування, що виготовляються традиційним чином.

Розкриті в цьому документі сполуки можуть бути виготовлені у вигляді препаратів для парентерального введення за допомогою ін'єкції, включаючи застосування традиційної техніки катетеризації або вливання. Препарати для ін'єкції можуть бути представлені в одиничній дозованій формі (наприклад, в ампулах) або в багатодозових контейнерах з доданим консервантом. Композиції можуть приймати такі форми, як суспензії, розчини або емульсії в масляних або водних основах, і можуть містити формоутворювальний засіб, такий як суспензуючий, стабілізуючий і/або диспергуючий засоби, відомі кваліфікованим фахівцям в даній галузі техніки. Як альтернатива, активний інгредієнт може бути в формі порошку для відновлення з відповідною основою (наприклад, з апірогенною водою) перед використанням.

Для місцевого застосування розкрита в цьому документі сполука може бути приготована у вигляді мазі або крему.

Розкриті в цьому документі сполуки можна також вводити в рецептури ректальних композицій, таких як супозиторії або клізми, що втримуються (наприклад, які містять традиційні основи супозиторіїв, такі як масло какао або інші гліцериди).

Для інтраназального введення або для введення за допомогою інгаляції розкриті в цьому документі сполуки можна зручним чином доставляти в формі розчину або суспензії з контейнера з пульверизатором, який пацієнт стискає або накачує, або в формі аерозольного спрею з контейнера під тиском або з небулайзера, що використовує прийнятний пропелент (наприклад, дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторетан, діоксид вуглецю або інший прийнятний газ). У випадку аерозолі під тиском дозована одиниця може бути визначена надаванням клапана, що постачає деяку відміряну кількість. Контейнер під тиском або небулайзер може містити розчин або суспензію сполуки, розкритої в цьому документі. Капсули або картриджі (виготовлені, наприклад, з желатину), призначені для застосування в інгаляторі або інсуфляторі, можуть бути виготовлені з вмістом, що являє собою суміш сполуки, розкритої в цьому документі, з порошковою основою, такою як лактоза або крохмаль.

Доза сполуки, розкритої в цьому документі, що пропонується для перорального, парентерального або букального введення середній дорослій людині для лікування або профілактики стану захворювання, пов'язаного з ТРО, становить приблизно 0,1-2000 мг. У певних варіантах здійснення даного винаходу передбачувана доза становить приблизно 0,1-200 мг активного інгредієнта на одиничну дозу. Незалежно від кількісного складу дози, що пропонується, введення сполуки може відбуватися, наприклад, від 1 до 4 разів на день.

Аерозольні препарати для лікування або попередження вказаних вище станів у середньої дорослої людини, переважно, складають так, щоб кожна відміряна доза або "вприск" аерозолі містили приблизно 20-10000 мг (переважно, приблизно 20-1000 мг) сполуки, розкритої в цьому документі. Загальна добова доза, що вводиться з аерозолем, буде знаходитися в діапазоні від приблизно 100 мг до приблизно 100 мг. У певних варіантах здійснення даного винаходу загальна добова доза, що вводиться з аерозолем, буде, як правило, знаходитися в діапазоні від приблизно 100 мг до приблизно 10 мг. Введення можна виробляти декілька разів на день (наприклад 2, 3, 4 або 8 разів), даючи, наприклад, 1, 2 або 3 дози кожний раз.

Комбіновані аерозольні препарати для лікування або попередження вказаних вище станів у середньої дорослої людини, переважно, складають так, щоб кожна відміряна доза або "вприск" аерозолі містили від приблизно 0,01 мг до приблизно 1000 мг комбінації, що містить сполуку, розкриту в цьому документі. У певних варіантах здійснення даного винаходу кожна відміряна доза або "вприск" аерозолі містить від приблизно 0,01 мг до приблизно 100 мг комбінації, що містить сполуку, розкриту в цьому документі. У певних варіантах здійснення даного винаходу кожна відміряна доза або "вприск" аерозолі містить від приблизно 1 мг до приблизно 10 мг комбінації, що містить сполуку, розкриту в цьому документі. Введення можна виконувати

декілька разів на день (наприклад 2, 3, 4 або 8 разів), даючи, наприклад, 1, 2 або 3 дози кожний раз.

Фармацевтичні композиції і способи лікування і профілактики, що включають в себе введення проліків щонайменше однієї розкритої в цьому документі сполуки, також знаходяться в межах об'єму даного розкриття.

Аналіз глюкозилцерамід-синтази

Як джерело активності глюкозилцерамід-синтази в ферментативному аналізі використовують мікросоми. До зв'язаного з мембранами ферменту додають флуоресцентний церамідний субстрат у вигляді комплексу з альбуміном. Після реакції церамід і глюкозилцерамід розділяють і кількісно визначають за допомогою зворотно-фазової ВЕРХ з флуоресцентним детектування.

Процедура

Отримання мікросом з клітин меланоми людини A375

Суспензію клітин на льоду обробляли ультразвуком до повного лізису клітин, після чого центрифугували при 10000 g протягом 10 хв. при 4 °C.

Супернатант освітлювали за допомогою повторного центрифугування при 100000 g протягом 1 години при 4 °C.

Осад ресуспендували в буфері лізису, розливали на аліквоти і зберігали при -80 °C.

Аналіз глюкозилцерамід-синтази

Субстрат і мікросоми з'єднували в співвідношенні 1:1, ретельно перемішували на планшетному шейкері, планшет закривали і інкубували 1 годину при кімнатній температурі в темряві.

Реакцію зупиняли, додаючи зупиняючий розчин в ямки реакційного планшета і суміш переносили на аналітичний планшет.

Аналіз з використанням зворотно-фазової ВЕРХ

- колонка: змінний картридж MercuryMS™ (Phenomenex) (Luna C₈, 3 мкм, 20×4 мм)

- система: Agilent 1100 з флуоресцентним детектором серії Agilent 1200

- рухома фаза: 1 % мурашиної кислоти в суміші 81 % метанолу і 19 % води, швидкість потоку 0,5 мл/хв., ізократичний режим, 4 хв.

- розріджувач зразка: 0,1 мМ C₈-церамід (блокатор адсорбції) в суміші 50 % ізопропанолу і 50 % води (по об'єму)

- детектування флуоресценції: $\lambda_{ex} = 470$ нм, $\lambda_{em} = 530$ нм

- при цих умовах NBD C₆ GluCer мав час утримування приблизно 1,7 хв., а NBD C₆ Cer виходив приблизно при 2,1 хв.; піки чітко розділялися аж до базової лінії, їх інтегрування проводилося автоматично програмним забезпеченням системи ВЕРХ,

- щоб уникнути варіабельності, зумовленої помилками при розбавленні і випаровуванням зразків, як реєстрований параметр при випробуваннях інгібіторів використовували % перетворення субстрату в продукт.

При аналізі "Reporter Assay" всі представлені сполуки мали значення IC₅₀ менше 5 мкМ.

Експериментальна частина

Загальна процедура А: Утворення карбамату/сечовини з трифосгеном

До суспензії гідрохлориду аміну А (1 екв.) і триетиламіну (3-4 екв.) в THF (концентрація ~0,2 М) при кімнатній температурі додавали трифосген (0,35 екв.). Реакційну суміш перемішували протягом 10 хв. і додавали невелику кількість простого ефіру (1-2 мл). Триетиламонійну сіль відфільтровували і отримували прозорий розчин ізоціанату в суміші THF з простим ефіром.

До розчину спирту (1,5 екв.) в THF (концентрація ~0,2 М) при кімнатній температурі додавали NaN [60%, масло] (1,5 екв.). Реакційну суміш перемішували протягом 15 хв. і по краплях додавали вищезгаданий розчин (ізоціанат в суміші THF/ефір).

При стандартній обробці реакцію гасили насиченим сольовим розчином. Розчин екстрагували EtOAc і органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи відповідний карбамат.

Як альтернатива: До суспензії гідрохлориду аміну А (1 екв.) і триетиламіну (3-4 екв.) в THF (концентрація ~0,2 М) при кімнатній температурі додавали трифосген (0,35 екв.). Реакційну суміш перемішували протягом 10 хв. і додавали невелику кількість простого ефіру (1-2 мл). Триетиламонійну сіль відфільтровували і отримували прозорий розчин ізоціанату в суміші THF/ефір.

До розчину аміну В (1 екв.) в THF (концентрація ~1,0 М) при кімнатній температурі по краплях додавали вищезгаданий розчин (ізоціанат в суміші THF/ефір). Реакційну суміш перемішували протягом 18 годин і концентрували. Неочищений матеріал очищали за

допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідну сечовину.

Загальна процедура B: Алкілювання органічною сполукою церію

Суспензію CeCl_3 (4 екв.) в THF (концентрація $\sim 0,2$ М) перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Суспензію охолоджували до -78°C і по краплях додавали MeLi в простому ефірі (1,6 М, 4 екв.). Церійорганічному комплексу давали можливість утворюватися протягом 1 години і по краплях додавали розчин нітрилу (1 екв.) в THF (концентрація 2,0 М). Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом 18 годин. Розчин охолоджували до 0°C і гасили водою (~ 1 мл), після чого додавали 50 %-ний водний розчин гідроксиду амонію (~ 3 мл) доти, поки не утворювався осад, що осідав на дно колби. Суміш фільтрували через шар целіту і концентрували. Неочищений матеріал обробляли розчином HCl в діоксані (4,0 М). Проміжний гідрохлорид арилпропан-2-аміну розтирали в простому ефірі і в такому вигляді використовували на наступній стадії. Як альтернатива, неочищену вільну основу аміну очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідний арилпропіламін.

Загальна процедура C: Утворення сечовини з карбонілдіімідазолом (CDI)

Розчин аміну A (1 екв.) і CDI (1,3 екв.) в THF (концентрація $\sim 0,15$ М) перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 1 години. Додавали розчин аміну B (1,3 екв.) в THF і реакційну суміш перемішували протягом додаткових 1,5 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли простим ефіром. Бажану сполуку осаджували і відфільтровували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (картридж основного Al_2O_3 , CHCl_3 і MeOH) або (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідну сечовину.

Загальна процедура D: Утворення сечовини з трифосгеном

До суспензії аміну A (1 екв.) і триетиламіну (4 екв.) в THF (концентрація $\sim 0,15$ М) при кімнатній температурі додавали трифосген (0,35 екв.). Реакційну суміш перемішували протягом 15 хв. і додавали амін B (1,1 екв.). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і потім розбавляли EtOAc . Органічний шар промивали водним NaOH (1,0 М), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідну сечовину.

Загальна процедура E: Реакція сполучення по Сузукі

До розчину арилгалогеніду (1 екв.) в суміші DME з водою (4:1) (концентрація $\sim 0,2$ М) додавали боронову кислоту (2 екв.), паладієвий каталізатор (0,1-0,25 екв.) і карбонат натрію (2 екв.). Реакційну суміш нагрівали в мікрохвильовій печі протягом 25 хв. при 150°C . Після фільтрування через шар целіту і концентрування неочищений продукт очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідний аддукт сполучення.

Як альтернатива: До розчину арилгалогеніду (1 екв.) в суміші толуолу з водою [20:1] (концентрація $\sim 0,2$ М) додавали боронову кислоту (1,3-2,5 екв.), паладієвий каталізатор (0,05-0,15 екв.), трициклогексилфосфін (0,15-0,45 екв.) і фосфат калію (5 екв.). Реакційну суміш нагрівали в мікрохвильовій печі протягом 25 хв. при 150°C . Після фільтрування через шар целіту і концентрування неочищений продукт очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідний аддукт сполучення.

Загальна процедура F: Гідрогенізація

До розчину субстрату в метанолі, етанолі або EtOAc (концентрація $\sim 0,2$ М) додавали паладієвий каталізатор (20 % від маси субстрату). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі при 1 атм. H_2 до завершення реакції. Реакційну суміш фільтрували через шар целіту, який потім два рази промивали хлороформом. Неочищений продукт концентрували і очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи гідрований продукт. Як альтернатива, кінцевий матеріал очищали за допомогою осадження або перекристалізації.

Загальна процедура G: Циклопропанування

До суміші арилнітрилу (1 екв.) і $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ (1,7 екв.), яка перемішується при -70°C , додавали по краплях EtMgBr [3,0 М в простому ефірі] (1,1 екв.). Реакційній суміші давали можливість нагріватися до 25°C і перемішування продовжували протягом 1 години. До вищезгаданої суміші по краплях додавали $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (3 екв.) при 25°C . Після цього додавання суміш перемішували ще протягом 2 годин і потім гасили водним розчином HCl [2 М]. Розчин, отриманий в результаті цього, підлугувували, додаючи водний NaOH [2 М]. Органічний матеріал екстрагували етиловим ефіром. Органічні шари об'єднували, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували.

Неочищений матеріал очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем, елюючи сумішшю петролейного ефіру з EtOAc (від 10/1 до 1/1) і отримуючи відповідний 1-арил-циклопропанамін.

Загальна процедура Н: Реакція сполучення за допомогою перегрупування Курціуса *in situ*

Суміш кислоти (1 екв.), триетиламіну (2,5 екв.), DPPA (1,0 екв.) в толуолі (концентрація ~0,3 М) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Суміш охолоджували до кімнатної температури і додавали спирт (1 екв.). Після цього додавання суміш нагрівали при 90 °С протягом 18 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли EtOAc і насиченим водним розчином бікарбонату натрію. Органічну фазу сушили над Na₂SO₄, концентрували і очищали за допомогою препаративної ТШХ (суміш EtOAc/MeOH 5:1, 1 %, що містила TEA), отримуючи відповідний карбамат.

Загальна процедура І: Утворення аміду з використанням EDCI

До розчину аміну (1 екв.) в DMF або THF (концентрація ~0,3 М) додавали EDCI (1,2-2,5 екв.), HOBT (1,2-2,5 екв.), DIPEA (1,2-2,5 екв.) і триетиламін (декілька крапель). Реакційну суміш перемішували і додавали кислоту (1,2 екв.). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і потім концентрували. Залишок розчиняли в EtOAc і промивали насиченим сольовим розчином. Органічний шар сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою препаративної ВЕРХ-МС або комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH).

Препаративна процедура А

Проміжна сполука 1

Гідрохлорид 2-(3-бромфеніл)-пропан-2-аміну

До розчину метил-3-бромбензоату (15,0 г, 69,8 ммоль) в THF (140 мл) при -78 °С додавали по краплях розчин MeMgBr в діетиловому простому ефірі [3,0 М] (58 мл). Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом 2 годин. Розчин виливали в насичений водний розчин хлориду амонію і органічний матеріал екстрагували EtOAc. Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували, отримуючи відповідний спирт (14,9 г), який використовували без подальшого очищення.

До розчину 2-(3-бромфеніл)-пропан-2-олу (17,2 г, 79,8 ммоль) в хлорацетонітрилі (160 мл) додавали оцтову кислоту (14 мл). Реакційну суміш охолоджували до 0 °С і по краплях додавали H₂SO₄ (14 мл). Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом 18 годин. Потім реакційну суміш виливали на лід і екстрагували EtOAc. Органічний шар промивали водним розчином NaOH [1,0 М] і насиченим сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували, отримуючи відповідний хлорацетамід (21,4 г), який використовували без подальшого очищення.

До розчину N-(2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл)-2-хлорацетаміду (20,3 г) в етанолі (120 мл) додавали оцтову кислоту (20 мл). Реакційну суміш перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчин охолоджували до кімнатної температури і осад відфільтровували на шарі целіту. Фільтрат концентрували і залишок розчиняли в EtOAc. Органічний шар обробляли водним розчином NaOH [1,0 М], сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений матеріал обробляли розчином HCl в діоксані [4 М]. Проміжну сполуку 2-(3-бромфеніл)-пропан-2-амін гідрохлорид розтирали в простому ефірі і в такому вигляді використовували на наступній стадії (7,50 г, 43%). ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,69 (кв., J=1,8 Гц, 1H), 7,55 (ддд, J=1,0, 1,8, 7,9 Гц, 1H), 7,49 (ддд, J=1,0, 2,0, 8,0 Гц, 1H), 7,38 (т, J=8,0 Гц, 1H), 1,71 (с, 6H) м. ч.

Препаративна процедура В

Проміжна сполука 2

Гідрохлорид 2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-аміну

До розчину 5-бром-2-фторбензойної кислоти (4,85 г, 22,8 ммоль) в метанолі (45 мл) додавали H₂SO₄ (4,5 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і розчин концентрували. Залишок обробляли водним розчином NaOH [10%, маса/об'єм] і органічний матеріал екстрагували CHCl₃. Органічний шар сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували, отримуючи відповідний складний ефір (4,69 г, 91%), який використовували без подальшого очищення.

Вказану складноефірну проміжну сполуку (4,69 г, 20,1 ммоль) перетворювали в проміжну сполуку 2, застосовуючи ту ж процедуру, що і в прикладі з проміжною сполукою 1, отримуючи відповідну амонійну сіль (3,94 г, загальний вихід 67 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,67-7,57 (м, 2H), 7,21 (дд, J=8,7, 12,3 Гц, 1H), 1,77 (с, 6H) м. ч.

Проміжна сполука 3

Гідрохлорид 2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-аміну

5-Бром-2-фторбензойну кислоту перетворювали в проміжну сполуку 3, застосовуючи ту ж процедуру, що і в прикладі з проміжною сполукою 2, отримуючи відповідну амонійну сіль (2,79 г, загальний вихід 49%) у вигляді білої твердої речовини.

Проміжна сполука 4

5 2-(3-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-амін

3-Бром-2-фторбензойну кислоту перетворювали в проміжну сполуку 4, застосовуючи ту ж процедуру, що і в прикладі з проміжною сполукою 2, отримуючи відповідний амін у вигляді світло-жовтого масла.

Проміжна сполука 5

10 Гідрохлорид 2-(4-бромфеніл)-пропан-2-аміну

Застосовуючи загальну процедуру В, перетворювали бромбензонітрil (2,00 г, 11,0 ммоль) у відповідний 2-(4-бромфеніл)-пропан-2-амін, який отримували у вигляді коричневого масла (1,20 г, 51 %).

Препаративна процедура С

15 Проміжна сполука 6

1,4-Діазабіцикло[3.2.2]нонан

До перемішаного розчину 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-3-ону (1,0 г, 7,2 ммоль) в 1,4-діоксані (7,2 мл) при кімнатній температурі додавали літійалюмінійгідрид [2,0 М в THF] (4,1 мл, 8,2 ммоль). Реакційну суміш потім нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 6 годин, після чого охолоджували до кімнатної температури. Реакцію гасили, послідовно додаючи 200 мкл H₂O, 200 мкл 15 %-ного водного розчину NaOH і 600 мкл H₂O. Суміш фільтрували через целіт, який потім промивали EtOAc. Об'єднаний фільтрат концентрували у вакуумі, отримуючи продукт (0,82 г, 90 %), який використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,28-3,25 (м, 1H), 2,99-2,95 (м, 8H), 1,86-1,80 (м, 3H), 1,69-1,64 (м, 2H) м. ч.

Препаративна процедура D

Проміжна сполука 7

2-Метилхінуклідин-3-ол

Розчин карбонату калію (11,4 г, 82,8 ммоль) і хінуклідингідрату (5,00 г, 20,4 ммоль) розчиняли в H₂O (15,6 мл). Після повного розчинення додавали дихлорметан (20,4 мл) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Органічну фазу відділяли і водну фазу екстрагували хлороформом (3×50 мл). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували у вакуумі. Продукт використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) 2,79 (с, 1H), 5,19 (с, 1H), 3,14-3,06 (м, 2H), 2,99-2,91 (м, 2H), 2,57-2,55 (м, 1H), 1,98-1,93 (м, 4H) м. ч.

2-Метиленхінуклідин-3-он (3,50 г) в етанолі (30 мл) відновлювали над 10% Pd/C (50 % мас.) в атмосфері водню. Коли на основі ТШХ робили висновок про завершення реакції (~3 дні), відфільтровували каталізатор і шар на фільтрі промивали етилацетатом. Розчинник видаляли у вакуумі, отримуючи бажаний продукт (2,80 г, 80 %), який використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) 3,37-3,31 (м, 1H), 3,21-3,13 (м, 2H), 3,09-3,00 (м, 1H), 2,97-2,89 (м, 1H), 2,46-2,43 (м, 1H), 2,05-1,91 (м, 4H), 1,34 (д, J=7,6 Гц, 3H) м. ч.

До 2-метилхінуклідин-3-ону (0,50 г, 3,60 ммоль) в 1,4-діоксані (18 мл) при кімнатній температурі додавали літійалюмінійгідрид [1,0 М в THF] (4,1 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин. Реакцію гасили, послідовно додаючи 116 мкл H₂O, 116 мкл 15 %-ного водного розчину NaOH і 348 мкл H₂O. Суміш фільтрували через целіт, який потім промивали EtOAc. Розчинник видаляли у вакуумі, отримуючи продукт (0,48 г, 95%) у вигляді суміші діастереомерів (2:1), яку використовували без подальшого очищення.

Препаративна процедура E

50 Проміжна сполука 8

1-Азабіцикло[3.2.2]нонан-4-ол

До 1-азабіцикло[3.2.2]нонан-4-ону (0,20 г, 1,4 ммоль) в 1,4-діоксані (2,8 мл) при 0 °C додавали літійалюмінійгідрид [1,0 М в THF] (1,7 мл, 1,7 ммоль). Реакційну суміш підтримували при 0 °C протягом 15 хвилин. Реакцію гасили, послідовно додаючи 46 мкл H₂O, 46 мкл 15 %-ного водного розчину NaOH і 138 мкл H₂O. Суміш фільтрували через целіт, який потім промивали EtOAc. Розчинник видаляли у вакуумі, отримуючи продукт (0,19 г, 96%), який використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,90-3,86 (м, 1H), 3,09-3,03 (м, 1H), 2,96-2,91 (дд, J=9,2, 6,8 Гц, 1H), 2,86-2,75 (м, 3H), 2,71-2,64 (м, 1H), 2,34-2,27 (шир. с, 1H), 1,98-1,86 (м, 3H), 1,71-1,59 (м, 3H), 1,51-1,35 (м, 1H) м. ч.

Препаративна процедура F

Проміжна сполука 9

1-Азабіцикло[2.2.1]гептан-3-ол

До суміші метоксиду натрію (2,00 г, 37,9 ммоль) в метанолі (9 мл) при 0 °С додавали гідрохлорид метилового складного ефіру гліцину (4,76 г, 37,9 ммоль) і диметилітаконат (5,00 г, 31,6 ммоль.) Реакційну суміш нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 16 годин, після чого охолоджували до кімнатної температури. Тверду речовину відфільтровували і промивали дихлорметаном. Фільтрат концентрували і залишок розбавляли 5 н HCl (50 мл). Водний шар екстрагували дихлорметаном (4×50 мл), сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували у вакуумі. Продукт використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,04 (дд, J=82,0, 17,6 Гц), 3,74-3,64 (м, 8H), 3,32-3,24 (м, 1H), 2,77-2,63 (м, 2H) м. ч.

До метил-1-(2-метокси-2-оксоетил)-5-оксопіролідін-3-карбоксилату (3,40 г, 16,0 ммоль) в THF (20 мл) при 0 °С додавали боран-THF [1,0 MB THF] (32,0 мл, 32,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 1 години і потім охолоджували до кімнатної температури, після чого їй давали можливість перемішуватися протягом додаткових 12 годин. Реакцію гасили, додаючи насичений розчин карбонату калію (5,52 г в 20 мл H₂O), і нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом однієї додаткової години, після чого охолоджували до кімнатної температури. Розчинник видаляли у вакуумі і залишок підкислювали, додаючи 5 н HCl (25 мл). Водний шар екстрагували дихлорметаном (2×30 мл). Потім рН водного шару робили лужним, додаючи твердий карбонат калію. Водний шар додатково екстрагували дихлорметаном (5×30 мл). Об'єднані органічні шари сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували у вакуумі. Продукт використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,66 (с, 3H), 3,63 (с, 3H), 3,29 (ABq, 2H, J=24,0, 16,8 Гц), 3,06-3,02 (м, 2H), 2,87-2,81 (м, 1H), 2,71-2,65 (м, 1H), 2,56-2,50 (м, 1H), 2,09-2,04 (м, 2H) м. ч.

До киплячого зі зворотним холодильником розчину трет-бутоксиду калію (2,46 г, 22,0 ммоль) в толуолі (32 мл) по краплях протягом 1 години додавали розчин метил-1-(2-метокси-2-оксоетил)-піролідін-3-карбоксилату (2,00 г, 10,0 ммоль) в толуолі (10 мл). Реакційній суміші давали можливість перемішуватися протягом додаткових 3 годин при кип'ятінні зі зворотним холодильником, після чого її спочатку охолоджували до кімнатної температури, а потім до -10 °С. Після цього при перемішуванні додавали оцтову кислоту (1,3 мл). Толуольний шар екстрагували 5 н HCl (4×50 мл). Об'єднані водні шари нагрівали при 110 °С протягом 8 годин. Реакційну суміш потім охолоджували до кімнатної температури і у вакуумі двічі зменшували її об'єм. рН реакційної суміші робили лужним, додаючи твердий карбонат калію. Водний шар екстрагували дихлорметаном (5×50 мл) і об'єднані органічні шари концентрували у вакуумі. До неочищеного продукту додавали етиловий простий ефір. Тверду речовину відфільтровували, отримуючи бажаний продукт (0,30 г, 27%), який використовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,05-2,96 (м, 3H), 2,76 (с, 2H), 2,72-2,66 (м, 2H), 2,09-2,01 (м, 1H), 1,78-1,71 (м, 1H) м. ч.

1-Азабіцикло[2.2.1]гептан-3-он (0,30 г, 2,7 ммоль) у етанолі (2-3 мл) відновлювали над PtO₂ (50 % мас.) в атмосфері водню. Після перемішування протягом 4 годин каталізатор відфільтровували і шар на фільтрі промивали етанолом. Етанол видаляли у вакуумі, одержуючи бажаний продукт (0,29 г, 95%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,36-4,35 (м, 1H), 3,10-3,05 (м, 1H), 2,95-2,88 (м, 1H), 2,72-2,66 (м, 1H), 2,63-2,57 (м, 2H), 2,48-2,44 (дд, J=10,0, 3,2 Гц, 1H), 2,11-2,05 (м, 2H), 1,51-1,44 (м, 1H) м. ч.

Препаративна процедура G

Проміжна сполука 10

(R)-3-метилхінуклідін-3-амін і (S)-3-метилхінуклідін-3-амін

До добре перемішаного розчину MeLi [3,0 M у 150 мл безводного діетилового простого ефіру] (67,0 мл, 201 ммоль) при -78 °С по краплях додавали розчин хінуклідін-3-ону (12,5 г, 100 ммоль) у діетиловому простому ефірі (100 мл). Розчин, отриманий у результаті цього, підтримували при -78 °С протягом 1 години, потім при кімнатній температурі протягом 18 годин. По краплях при 0 °С додавали воду (60 мл) і суміш концентрували у вакуумі, одержуючи залишок, який очищали за допомогою хроматографії на колонці з нейтральним оксидом алюмінію (0-20 % MeOH у CHCl₃), одержуючи 3-метилхінуклідін-3-ол (10,0 г, 71%) у вигляді світло-жовтої твердої речовини. До перемішаного ацетонітрилу (250 мл) при 0 °С повільно додавали концентровану сірчану кислоту (100 мл). Розчин, отриманий у результаті цього, додавали по краплях до суміші 3-метилхінуклідін-3-олу (9,10 г, 64,5 ммоль) в ацетонітрилі (250 мл) при 0 °С. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 60 годин, потім охолоджували на крижаній бані і підлугували водним розчином гідроксиду натрію до рН 10.

Суміш екстрагували сумішшю $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (5:1 об./об.). Органічний шар концентрували, одержуючи залишок, який розбавляли 2 н водної HCl і промивали сумішшю $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (5:1 об./об.). Водний шар, що залишився, потім підлговували 2 н NaOH і екстрагували сумішшю $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (5:1 об./об.). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили (Na_2SO_4) і концентрували, одержуючи 9,5 г (82%) бажаної сполуки у вигляді світло-жовтого масла. Два енантіомери вищевказаної проміжної сполуки розділяли, використовуючи хіральну колонку в системі надкритичної рідинної хроматографії (SFC).

Розчин вищевказаної хіральної ацетамідної проміжної сполуки (9,50 г, 52,0 ммоль) у концентрованій HCl (100 мл) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 3 днів, охолоджували на крижаній бані і нейтралізували водним розчином гідроксиду натрію до pH 1. Суміш промивали сумішшю $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (5:1 об./об.). Водний шар потім підлговували 2 н NaOH і екстрагували сумішшю $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (5:1 об./об.). Об'єднані екстракти промивали водою, сушили (Na_2SO_4) і концентрували, одержуючи 5,00 г (69%) бажаної хіральної сполуки у вигляді світло-жовтої напіврідкої речовини. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 2,72-2,39 (м, 6H), 2,01-1,96 (м, 1H), 1,67-1,61 (м, 1H), 1,43-1,36 (м, 2H), 1,23-1,17 (м, 1H), 1,09 (с, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, DMSO-d_6) δ 65,3, 48,3, 46,6, 46,4, 34,2, 30,0, 24,8, 22,8 м. ч. Чистота більша 99% (GC-MS); час утримування 6,63 хв.; (M) 140,1.

Препаративна процедура Н

Проміжна сполука 11

2-(3-(4-Фторфеніл)-ізотіазол-5-іл)-пропан-2-амін

До перемішуваної суспензії 4-фторбензаміду (70,00 г, 503,1 ммоль) у толуолі (900 мл) додавали хлоркарбонілсульфенілхлорид (83,0 мл, 1,00 моль). Суміш нагрівали протягом ночі при 60 °C і концентрували. Отриману в результаті цього жовтувато-коричневу тверду речовину розтирали з метиленхлоридом (200 мл), збирали за допомогою фільтрування з відсмоктуванням і додатково промивали метиленхлоридом (4×70 мл). Неочищеним продуктом просочували силікагель (100 г), що у сухому вигляді завантажували у велику фільтрувальну лійку, після чого проводили хроматографічну процедуру, використовуючи гексан/етилацетатний градієнт. Продукт, що являв собою 5-(4-фторфеніл)-1,3,4-оксатіазол-2-он, одержували у вигляді світло-сірої твердої речовини (55,98 г, 56%).

До перемішуваного розчину 5-(4-фторфеніл)-1,3,4-оксатіазол-2-ону (42,80 г, 217,1 ммоль) у о-дихлорбензолі (600 мл) додавали етилпропіонат (66,0 мл, 651 ммоль). Суміш нагрівали протягом ночі при 135 °C і концентрували. Маслянистий залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан/етилацетатний градієнт і одержуючи етил-3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-5-карбоксилат у вигляді світло-золотавої твердої речовини (17,35 г, 32%). Більш полярний ізомер - етил-3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-4-карбоксилат (утворений у приблизному співвідношенні 57/43 з бажаним продуктом) - відкидали.

До перемішуваного й охолоджуваного (0 °C) розчину етил-3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-5-карбоксилату (38,50 г, 153,2 ммоль) у THF (400 мл) протягом 20 хвилин по краплях додавали розчин метилмагнійброміду в діетиловому простому ефірі (3,0 М, 128 мл, 384 ммоль). Після наступних 1,5 годин при 0 °C реакцію гасили повільним додаванням етилацетату (20 мл) і концентрували. Залишок розчиняли у водному NH_4Cl (400 мл) і екстрагували етилацетатом (2×150 мл). Об'єднані екстракти сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Отриманий у результаті цей сироп бурштинового кольору очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан/етилацетатний градієнт і одержуючи 2-(3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-5-іл)-пропан-2-ол у вигляді напіврідкої речовини золотавого кольору (29,02 г, 80%).

2-(3-(4-Фторфеніл)-ізотіазол-5-іл)-пропан-2-ол (29,00 г, 122,2 ммоль) змішували з тіонілхлоридом (75 мл). Суміш швидко охолоджували (на крижаній бані) і перемішували. Через 4 години реакційну суміш концентрували і залишок розподіляли між етилацетатом (200 мл) і водним NaHCO_3 (300 мл). Органічний шар об'єднували зі зворотним екстрактом водного шару (етилацетат, 1×100 мл), сушили (Na_2SO_4) і концентрували, одержуючи суміш бажаного продукту, який являв собою 5-(2-хлорпропан-2-іл)-3-(4-фторфеніл)-ізотіазол, і побічного продукту, що відкидається, який являв собою 3-(4-фторфеніл)-5-(проп-1-ен-2-іл)-ізотіазол (у приблизному співвідношенні 63/39), у вигляді темного масла бурштинового кольору (29,37 г). Цей матеріал використовували без очищення в наступній реакції.

До перемішуваного розчину продукту попередньої стадії в DMSO (80 мл) додавали азид натрію (14,89 г, 229,0 ммоль). Суміш нагрівали при 50 °C протягом ночі, розбавляли етилацетатом (250 мл) і промивали водою (6×400 мл). Органічний шар сушили (Na_2SO_4) і концентрували, одержуючи суміш 5-(2-азидпропан-2-іл)-3-(4-фторфеніл)-ізотіазолу і 3-(4-фторфеніл)-5-(проп-1-ен-2-іл)-ізотіазолу (у приблизному співвідношенні 56/44) у вигляді темного

масла бурштинового кольору (29,10 г). Цей матеріал використовували без очищення в наступній реакції.

Продукт попередньої стадії змішували з 10%-ним паладієм на вугіллі (50% води; 7,50 г) і суспендували в метанолі (350 мл). Перемішувану суспензію піддавали трьом циклам чергування вакууму і продування азотом. Після додаткового вакуумування реактор заповнювали газоподібним воднем (з надувним резервуаром) і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували через целіт. Фільтрат об'єднували з метанолом, використаним для промивання целіту, і концентрували. Темне масло бурштинового кольору, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи метиленхлорид/метанольний градієнт і одержуючи 2-(3-(4-фторфеніл)-ізіотіазол-5-іл)-пропан-2-амін у вигляді в'язкого масла бурштинового кольору (14,23 г, 49% за 3 стадії).

Для лікування хвороб лізосомного накопичення (LSD) застосовують декілька підходів, більшість з яких фокусується на ферментозамісній терапії, яка застосовується у вигляді монотерапевтичного ведення хворого. Для лікування LSD є багато комерційно доступних засобів ферментозамісної терапії (наприклад, Myozyme® для хвороби Помпе, Aldurazyme® для мукополісахаридозу I, Cerezyme® для хвороби Гоше і Fabrazyme® для хвороби Фабрі). Крім того, автори даного винаходу ідентифікували ряд малих молекул, застосованих для монотерапевтичного лікування LSD. Терапевтичні способи згідно із даним винаходом, описані в даному документі, надають практичному лікарю, що зіштовхується з проблемою ведення хворих, які страждають на різні форми хвороб лізосомного накопичення, варіанти лікування, докладно описані нижче.

У визначених аспектах даного винаходу сполуки згідно із даним винаходом можна застосовувати для лікування метаболічного захворювання, такого як хвороба лізосомного накопичення (LSD), або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією. В інших аспектах даного винаходу, сполуки згідно із даним винаходом можна застосовувати для інгібування або зменшення активності GCS у суб'єкта з поставленим діагнозом метаболічного захворювання, такого як LSD, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією. В інших аспектах даного винаходу, сполуки згідно із даним винаходом можна застосовувати для зменшення або інгібування накопичення матеріалу, що зберігається (наприклад, лізосомного субстрату), у суб'єкта з поставленим діагнозом метаболічного захворювання, такого як LSD. У визначених варіантах здійснення вищевказаних аспектів вказане LSD являє собою хворобу Гоше (типу 1, типу 2 або типи 3), хворобу Фабрі, G_{M1}-гангліозидоз або G_{M2}-гангліозидози (наприклад, дефіцит активатора GM2, хворобу Тея-Сакса і хворобу Сандхоффа). У Таблиці 1 перераховано багато форм LSD і вказані відповідні дефіцитні ферменти, які можна використовувати як ферментозамісну терапію ERT у вищевказаних аспектах даного винаходу.

При інших ситуаціях і планах дій, пацієнту, стан якого вимагає зниження рівнів субстратів у мозку, що неможливо здійснити за допомогою системного введення засобів ERT, може виявитися необхідним надання терапії малими молекулами (SMT). Хоча пряме інтрацеребровентрикулярне або інтратекальне введення може знизити рівні субстратів у мозку, однак при LSD з залученням центральної нервової системи (ЦНС) системне введення засобів ERT не є ефективним внаслідок їхньої нездатності проникати через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), і тому для пацієнтів із залишковою ферментативною активністю в ЦНС може виявитися корисною терапія малими молекулами (SMT).

Згідно із даним винаходом, SMT надають пацієнту для лікування раку і/або метаболічного захворювання, такого як хвороба лізосомного накопичення. SMT може містити в собі одну або більше малих молекул. SMT містить у собі введення пацієнту сполуки згідно із даним винаходом. У конкретних варіантах здійснення даного винаходу вказана сполука являє собою (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамат або хінуклідин-3-іл-(2-(4-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-ил)-пропан-2-іл)-карбамат або їхні комбінації.

У визначених варіантах здійснення даного винаходу сполуки згідно із даним винаходом, такі як, наприклад, (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамат і хінуклідин-3-іл-(2-(4-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-ил)-пропан-2-іл)-карбамат, можна застосовувати для лікування практично будь-якої хвороби накопичення, причиною якої є дефект на глікофінголіпідному шляху (наприклад, хвороба Гоше типу 1, типу 2 і типи 3, хвороба Фабрі, G_{M1}-гангліозидоз, G_{M2}-гангліозидози (наприклад, дефіцит активатора GM2, хвороба Тея-Сакса і хвороба Сандхоффа)). В особливо переважному варіанті здійснення даного винаходу (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамат або його фармацевтично прийнятну сіль або проліки застосовують для інгібування і/або зменшення накопичення Gb3 і/або лізо-Gb3 у пацієнта з хворобою Фабрі, або у вигляді монотерапії, або у вигляді

комбінованого лікування з ферментозамісною терапією (див. Приклади). У переважному варіанті здійснення даного винаходу ферментозамісна терапія містить у собі введення пацієнту з хворобою Фабрі альфа-галактозидази А. Фактично, приклади, приведені нижче, демонструють, що інгібітор GCS згідно із даним винаходом ефективно зменшує накопичення Gb3 і лізо-Gb3 у моделі хвороби Фабрі в мишей, що підтверджує обґрунтованість його застосування як доцільний спосіб лікування хвороби Фабрі. Крім того, приведені в Прикладах дані, отримані при комбінованій терапії *in vivo*, переконливо свідчать про те, що комбінований терапевтичний підхід може бути як адитивним, так і комплементарним.

У визначених варіантах здійснення даного винаходу сполуки згідно із даним винаходом, такі як, наприклад, (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамат і хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-пропан-2-іл)-карбамат, можна застосовувати для зниження рівня GluCer і GluSph у мозку суб'єкта, якому поставлений діагноз нейропатичною хвороби Гоше, - або у вигляді монотерапії, або в комбінації з ERT (наприклад, у поєднанні з уведенням глюкоцереб्रोзидази).

Режими дозування для того компонента комбінованої терапії згідно із даним винаходом, яким є терапія малими молекулами, як правило, визначає кваліфікований клініцист; вони можуть значно варіювати залежно від конкретної хвороби накопичення, лікування якої проводять, і від клінічного стану конкретного хворого індивіда. Загальні принципи визначення режиму дозування для даної форми терапії малими молекулами згідно із даним винаходом при лікуванні будь-якої хвороби накопичення добре відомі кваліфікованому фахівцю. Керівні вказівки по режимах дозування можна одержати в будь-якому з багатьох добре відомих довідкових видань по цій темі. Додаткові рекомендації доступні, зокрема, в оглядах по конкретних предметах, вказаних у даному документі. У визначених варіантах здійснення даного винаходу такі дози можуть знаходитися в діапазонах від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 300 мг/кг, переважно, від приблизно 5 мг/кг до приблизно 60 мг/кг (наприклад, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 35 мг/кг, 40 мг/кг, 45 мг/кг, 50 мг/кг, 55 мг/кг і 60 мг/кг) при внутрішньоочеревинному, пероральному або еквівалентному уведенні від одного до п'яти разів на день. Такі дози можуть знаходитися в діапазонах від приблизно 5 мг/кг до приблизно 5 г/кг (переважно, від приблизно 10 мг/кг до приблизно 1 г/кг) при пероральному, внутрішньоочеревинному або еквівалентному уведенні від одного до п'яти разів на день. В одному варіанті здійснення даного винаходу діапазони доз складають від приблизно 10 мг/день до приблизно 500 мг/день (наприклад, 10 мг/день, 20 мг/день, 30 мг/день, 40 мг/день, 50 мг/день, 60 мг/день, 70 мг/день, 80 мг/день, 90 мг/день, 100 мг/день, 110 мг/день, 120 мг/день, 130 мг/день, 140 мг/день, 150 мг/день, 160 мг/день, 170 мг/день, 180 мг/день, 190 мг/день, 200 мг/день, 210 мг/день, 220 мг/день, 230 мг/день, 240 мг/день, 250 мг/день, 260 мг/день, 270 мг/день, 280 мг/день, 290 мг/день, 300 мг/день). Особливо переважний діапазон пероральних доз складає від приблизно 50 мг до приблизно 100 мг при введенні дози двічі на день. Конкретний діапазон пероральних доз для сполуки згідно із даним винаходом складає від приблизно 5 мг/кг/день до приблизно 600 мг/кг/день. Зокрема, діапазон пероральних доз для сполуки згідно із даним винаходом складає від приблизно 1 мг/кг/день до приблизно 120 мг/кг/день (наприклад, 1 мг/кг/день, 5 мг/кг/день, 10 мг/кг/день, 15 мг/кг/день, 20 мг/кг/день, 25 мг/кг/день, 30 мг/кг/день, 35 мг/кг/день, 40 мг/кг/день, 45 мг/кг/день, 50 мг/кг/день, 55 мг/кг/день або 60 мг/кг/день, 65 мг/кг/день, 70 мг/кг/день, 75 мг/кг/день, 80 мг/кг/день, 85 мг/кг/день, 90 мг/кг/день, 95 мг/кг/день, 100 мг/кг/день, 105 мг/кг/день, 110 мг/кг/день, 115 мг/кг/день або 120 мг/кг/день).

У визначених варіантах здійснення даний винахід стосується форм комбінованої терапії з проведенням SMT із застосуванням сполук згідно із даним винаходом і ERT для лікування хвороб лізосомного накопичення. Частковий список відомих хвороб лізосомного накопичення, які можна лікувати згідно із даним винаходом, представлений у Таблиці 1, що включає тривіальні назви захворювань, накопичуваний матеріал і відповідний дефіцитний фермент (адаптований з Таблиці 38-4 у публікації Kolodny et al., 1998, Id.).

Таблиця 1

Лізосомні хвороби накопичення

Захворювання	Накопичуваний матеріал	Дефіцитний фермент
Сфінголіпідоз		
Хвороба Гоше	Глюкоцереброзид, глюкозилсфінгозин	Глюкоцереб्रोзидаза
Хвороба Німанна-Піка	Сфінгомієлін	Сфінгомієліназа
Хвороба Німанна-Піка В	Сфінгомієлін	Сфінгомієліназа
Хвороба Фарбера	Церамід	Церамідаза
G _{M1} -гангліозидоз	G _{M1} -гангліозид, глікопротеїн	G _{M1} -гангліозид-β-галактозидаза
G _{M2} -гангліозидоз (хвороба Сандхоффа)	G _{M2} -гангліозид, глобозид	Гексозамінідази А і В
Хвороба Тей-Сакса	G _{M2} -гангліозид	Гексозамінідаза А
Хвороба Краббе	Галактозилцерамід	β-Галактоцереб्रोзидаза
Мукополісахаридози		
Хвороба Гурлера-Шейє (MPS I)	Дерматансульфат, гепаринсульфат	α-L-ідуронідаза
Хвороба Хантера (MPS II)	Дерматансульфат, гепаринсульфат	Ідуронатсульфатаза
Хвороба Санфліппо (MPS III)		
Тип А	Гепарансульфат	Гепаран-N-сульфатаза
Тип В	Гепарансульфат	N-ацетил-α-глюкозамінідаза
Тип С	Гепарансульфат	Ацетил-Со:α-глюкозамінід-ацетилтрансфераза
Тип D	Гепарансульфат	N-ацетил-α-глюкозамін-6-сульфатаза
Хвороба Моркіо (MPS IV)		
Тип А	Кератансульфат	Галактозамін-6-сульфатаза
Тип В	Кератансульфат	β-галактозидаза
Хвороба Марото-Ламі (MPS VI)	Дерматансульфат	Галактозамін-4-сульфатаза (арилсульфатаза В)
Хвороба Слая (MPS VII)	Дерматансульфат, гепарансульфат	β-глюкуронідаза
Мукосульфатидоз	Сульфатиди, мукополісахариди	Арилсульфатази А, В і С, інші сульфатази
Муколіпідоз		
Сіалідоз	Сіалілолігосахариди, глікопротеїни	α-нейрамінідаза
Муколіпідоз II	Сіалілолігосахариди, глікопротеїни, гліколіпіди	Ферменти, підвищені в сироватці, знижені у фібробластах; N-ацетил-глюкозамін-1-фосфат-трансфераза
Муколіпідоз III	Глікопротеїни, гліколіпіди	Теж
Муколіпідоз IV	Гліколіпіди, глікопротеїни	Білок MCOLN 1 transm
Інші захворювання комплексного вуглеводного метаболізму		
Хвороба Фабрі	Глоботриаозилцерамід (Gb3), лізо-Gb3	α-галактозидаза А
Хвороба Шиндлера	О-зв'язані глікопептиди	α-N-ацетилгалактозамінідаза
Хвороба Помпе	Глікоген	α-глюкозидаза
Хвороба накопичення сілової кислоти	Вільна сілова кислота	Невідомо
Фукозидоз	Фукогліколіпіди, фукозилігосахариди	α-фукозидаза
Манозидоз	Манозилігосахариди	α-манозидаза

Аспартилглюкозамінурія	Аспартилглюкозамін	Аспартилглюкозамін-амідаза
Хвороба Вольмана	Холестерильні складні ефіри, тригліцериди	Кисла ліпаза
Неврональні цероїдні ліпофусцинози (NCLs)*		
Інфантильний NCL	Гранулярні осмофільні відкладення, сапозини A і D, тіоестераза	Пальмітоїлпротеїн-тіоестераза (PPT1)
Пізній інфантильний	Криволінійні профілі, с-субодиниця АТФ-синтази	Трипептидилпротеаза 1 (TPP1)
Фінський варіант	Профілі типу "відбитків пальців"/прямолінійні профілі, субодиниця з АТФ-синтази	CLN5
Варіант	Профілі типу "відбитків пальців"/прямолінійні профілі, с-субодиниця АТФ-синтази	CLN6
Ювенільний	Профілі типу "відбитків пальців", с-субодиниця АТФ-синтази	CLN3
Дорослий	Змінно	Невідомо
Північна епілесія	Прямолінійний профіль, с-субодиниця АТФ-синтази	CLN8
Турецький варіант	Профілі типу "відбитків пальців"/прямолінійні профілі - складові елементи невідомі	Невідомо
Лізосомні хвороби транспорту і метаболізму холестерину		
Хвороба Німанна-Піка, тип С	Неетерифікований холестерин	NPC1 або NPC2

* Davidson et al. The Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, Clinical Features and Molecular Basis of Disease. In Barranger JA and Cabrera-Salazar MA (Eds) Lysosomal Storage Disorders. 2007. pp. 371-388. Springer, New York, U.S.A.

Для монітування стану захворювання й ефективності комбінованої терапії згідно із даним винаходом можна застосовувати будь-який спосіб, відомий кваліфікованому фахівцю в даній галузі. Клінічний моніторинг стану захворювання може містити в собі, не обмежуючи цим, реєстрацію об'єму органа (наприклад, печінки, селезінки), гемоглобін, чисельність еритроцитів, гематокрит, тромбоцитопенію, кахексію (виснаження) і рівні хітинази (наприклад, хітотриозидази) у плазмі. Хітотриозидаза, фермент із сімейства хітинази, як відомо, продукується у великих кількостях макрофагами в суб'єктів із хворобами лізосомного накопичення (див. Guo et al., 1995, J. Inherit. Metab. Dis. 18, 717-722; den Tandt et al., 1996, J. Inherit. Metab. Dis. 19, 344-350; Dodelson de Kremer et al., 1997, Medicina (Buenos Aires) 57, 677-684; Czartoryska et al., 2000, Clin. Biochem. 33, 147-149; Czartoryska et al., 1998, Clin. Biochem. 31, 417-420; Mistry et al., 1997, Baillieres Clin. Haematol. 10, 817-838; Young et al., 1997, J. Inherit. Metab. Dis. 20, 595-602; Hollak et al., 1994, J. Clin. Invest. 93, 1288-1292). Переважно, хітотриозидазу вимірюють разом з ангіотензин-перетворювальним ферментом і кислотою фосфатазою, яка інгібується тартратом, для монітування реакції на лікування в пацієнтів із хворобою Гоше.

Способи і препарати для проведення комбінованої терапії згідно із даним винаходом містять у собі всі способи і препарати, добре відомі в даній галузі (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 1980 і наступні роки, 16th ed. і наступні видання, A. Oslo editor, Easton Pa.; Controlled Drug Delivery, 1987, 2nd rev., Joseph R. Robinson and Vincent H. L. Lee, eds., Marcel Dekker, ISBN: 0824775880; Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, 1999, Edith Mathiowitz, John Wiley and Sons, ISBN: 0471148288; U.S. Pat. No. 6066626 і посилання, вказані в цій публікації; див. також посилання, які цитуються в розділах, представлених нижче).

Згідно із даним винаходом, надані наступні загальні способи комбінованої терапії при лікуванні хвороб лізосомного накопичення. Кожен загальний спосіб містить у собі комбінування ферментозамісної терапії з терапією малими молекулами, що відповідає оптимізації клінічної

ефективності при мінімізації несприятливих ефектів, пов'язаних із застосуванням кожного способу лікування у вигляді монотерапії.

В одному варіанті здійснення даного винаходу ферментозамісну терапію (у вигляді монотерапії або в комбінації з терапією малими молекулами) проводять для початку лікування (тобто для "розвантаження" суб'єкта), а терапію малими молекулами проводять після фази "розвантаження" для досягнення і підтримки стабільного тривалого терапевтичного ефекту без необхідного проведення частих внутрішньовенних ін'єкцій засобів ERT. Наприклад, препарати ферментозамісної терапії можна вводити внутрішньовенно (наприклад, протягом періоду тривалістю від однієї до двох годин) один раз на тиждень, один раз кожні два тижні або один раз кожні два місяці протягом декількох тижнів або місяців або більш довго (наприклад, доти, поки не зменшиться розмір індикаторного органа, такого як селезінка або печінка). Крім того, ERT-фазу початкового розвантажувального лікування можна проводити у вигляді монотерапії або в комбінації з терапією малими молекулами. Компонент комбінованої терапії, яким є терапія малими молекулами, особливо бажаний тоді, коли малу молекулу можна вводити перорально, завдяки чому можна додатково зменшити частоту внутрішньовенного втручання.

Почергове застосування ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами доповнення терапії, що використовує малі молекули, при необхідності, ферментозамісною терапією надає стратегію, при якій одночасно використовуються переваги і переборюються слабкості, характерні для кожного такого способу лікування як монотерапії. Перевагою ферментозамісної терапії, як застосовуваної для "розвантаження", так і для більш тривалого лікування, є більш широкий клінічний досвід, доступний для інформування практичних лікарів, що приймають рішення в реальних ситуаціях. Крім того, суб'єкту можна ефективно підбирати дозу ERT при проведенні розвантажувальної фази - наприклад, монітуючи біохімічні метаболіти в сечі або інших біологічних зразках або вимірюючи об'єм ураженого органа. Недоліком ферментозамісної терапії, однак, є частота впливу, що вимагається, що звичайно містить у собі внутрішньовенні ін'єкції, виконувани щотижня або раз на два тижні, що зумовлено постійним повторним накопиченням субстрату. Застосування терапії малими молекулами для зменшення кількості субстрату або для інгібування його накопичення в пацієнта може, у свою чергу, зменшити частоту процедур ферментозамісної терапії. Наприклад, у двотижневий режим дозування ферментозамісної терапії може бути включений період "вихідних днів" (наприклад, коли застосовують терапію малими молекулами), так що усувається необхідність у частих ін'єкціях ферментів. Крім того, лікування хвороби лізосомного накопичення за допомогою комбінованої терапії може надати деякі комплементарні терапевтичні підходи. Фактично, як продемонстровано нижче в розділі "Приклади", комбінована терапія SMT і ERT може значно удосконалити кожний з цих терапевтичних способів сам по собі. Ці дані свідчать, що комбінована терапія з застосуванням SMT і ERT може бути й адитивною, і комплементарною. В одному варіанті здійснення даного винаходу ERT можна застосовувати як спосіб "розвантаження" (тобто для початкового лікування) з наступним або одночасним додатковим застосуванням SMT, при якій використовуються сполуки згідно із даним винаходом. В іншому варіанті здійснення даного винаходу пацієнта спочатку лікують, застосовуючи SMT з використанням сполуки згідно із даним винаходом, а після неї або одночасно з нею додатково проводять ERT. В інших варіантах здійснення даного винаходу SMT застосовують для інгібування або зменшення подальшого накопичення субстрату (або повторного накопичення субстрату, якщо SMT застосовують після "розвантаження", виконаного з застосуванням ERT) у пацієнта з хворобою лізосомного накопичення і, необов'язково, при необхідності проводять ERT для подальшого зниження накопичення субстрату. В одному варіанті здійснення даний винахід надає спосіб комбінованої терапії для лікування суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе почергове застосування ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами. В іншому варіанті здійснення даний винахід надає спосіб комбінованої терапії для лікування суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає в себе одночасне застосування ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами. Варто розуміти, що в різних варіантах комбінованої терапії згідно із даним винаходом терапію малими молекулами можна проводити до проведення ферментозамісної терапії, одночасно з нею або після неї. Аналогічним чином, ферментозамісну терапію можна проводити до проведення терапії малими молекулами, одночасно з нею або після неї.

У будь-якому з варіантів здійснення даного винаходу вказана хвороба лізосомного накопичення є вибраною з групи, яка включає в себе хворобу Гоше (типи 1, 2 і 3), хворобу Німанна-Піка, хворобу Фарбера, GM_1 -гангліозидоз, GM_2 -гангліозидози (наприклад, дефіцит активатора GM_2 , хворобу Тея-Сакса і хворобу Сандхоффа), хворобу Краббе, хвороба Гурлера-Шейє (MPS I), хворобу Хантера (MPS II), хворобу Санфліппо (MPS III) Типу A, хворобу

Санфліппо (MPS III) Типу В, хворобу Санфліппо (MPS III) Типу С, хворобу Санфліппо (MPS III) Типу D, хворобу Моркіо (MPS IV) Типу А, хворобу Моркіо (MPS IV) Типу В, хворобу Марото-Ламі (MPS VI), хворобу Слая (MPS VII), мукосультатидоз, сіалідози, муколіпідоз II, муколіпідоз III, муколіпідоз IV, хворобу Фабрі, хворобу Шиндлера, хворобу Помпе, хвороба накопичення сілової кислоти, фукозидоз, манозидоз, аспартилглюкозамінурію, хворобу Вольмана і неврональні цероїдні ліпофусцинози.

Крім того, ферментозамісна терапія надає ефективну кількість щонайменше одного з наступних ферментів: глюкоцереброзидази, сфінгомієлінази, церамідази, G_{M1} -гангліозид-бета-галактозидази, гексозамінідази А, гексозамінідази В, бета-галактоцереброзидази, альфа-L-ідуронідази, ідуронатсульфатази, гепаран-N-сульфатази, N-ацетил-альфа-глюкозамінідази, ацетил-Со:альфа-глюкозамінід-ацетилтрансферази, N-ацетил-альфа-глюкозаміні-6-сульфатази, галактозаміні-6-сульфатази, бета-галактозидази, галактозаміні-4-сульфатази (арилсульфатази В), бета-глюкуронідази, арилсульфатази А, арилсульфатази С, альфа-нейрамінідази, N-ацетилглюкозаміні-1-фосфат-трансферази, альфа-галактозидази А, альфа-N-ацетилгалактозамінідази, альфа-глюкозидази, альфа-фукозидази, альфа-манозидози, аспартилглюкозамінідази, кислоти ліпази, пальмітоїлпротеїн-тіоестерази (CLN-1), PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, NPC1 або NPC2.

Згідно із даним винаходом, вказані SMT і/або ERT знижують рівень щонайменше одного з наступних накопичуваних матеріалів: глюкоцереброзиду, сфінгомієліну, цераміду, G_{M1} -гангліозиду, G_{M2} -гангліозиду, глобозиду, галактозилцераміду, дерматансульфату, гепарансульфату, кератансульфату, сульфатидів, мукополісахаридів, сіалілолігосахаридів, глікопротеїнів, сіалілолігосахаридів, гліколіпідів, глоботриаозилцераміду, О-зв'язаних глікопептидів, глікогену, вільної сілової кислоти, фукогліколіпідів, фукозиллігосахаридів, манозиллігосахаридів, аспартилглюкозаміну, холестерильних складних ефірів, тригліцеридів, гранулярних осмофільних відкладень - сапозинів А і D, с-субодиниці АТФ-синтази, NPC1 або NPC2.

У визначених варіантах здійснення даного винаходу терапія малими молекулами містить у собі введення вказаному суб'єкту ефективної кількості (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамату (див. Фіг. 2А). В інших варіантах здійснення даного винаходу терапія малими молекулами містить у собі введення вказаному суб'єкту ефективної кількості хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-пропан-2-іл)-карбамату (див. Фіг. 2В). Терапія малими молекулами може містити в собі введення суб'єкту однієї або більше сполук. У визначених варіантах здійснення даного винаходу щонайменше одна з вказаних сполук являє собою сполуку згідно із даним винаходом, таку як ті, які показані на Фігурах 2А і/або 2В.

Ферментозамісна терапія може спровокувати небажані імунні реакції. Тому разом з ферментозамісним компонентом комбінованої терапії згідно із даним винаходом можна застосовувати імуносупресивні засоби. Такі засоби можуть також застосовуватися і з терапією малими молекулами, але в цьому випадку потреба такого втручання, як правило, є менш ймовірною. Разом з комбінованою терапією згідно із даним винаходом можна застосовувати будь-який імуносупресант, відомий кваліфікованому фахівцю в даній галузі. До таких імуносупресантів належать, але не обмежуються ними, циклоспорин, FK506, рапаміцин, CTLA4-Ig і препарати проти TNF, такі як етанерцепт (див. наприклад Moder, 2000, Ann. Allergy Asthma Immunol. 84, 280-284; Nevins, 2000, Curr. Opin. Pediatr. 12, 146-150; Kurlberg et al., 2000, Scand. J. Immunol. 51, 224-230; Ideguchi et al., 2000, Neuroscience 95, 217-226; Potteret et al., 1999, Ann. N.Y. Acad. Sci. 875, 159-174; Slavik et al., 1999, Immunol. Res. 19, 1-24; Gaziev et al., 1999, Bone Marrow Transplant. 25, 689-696; Henry, 1999, Clin. Transplant. 13, 209-220; Gummert et al., 1999, J. Am. Soc. Nephrol. 10, 1366-1380; Qi et al., 2000, Transplantation 69, 1275-1283). Як імуносупресант можна також застосовувати антитіла проти альфа-субодиниці рецептора IL2 (препарати даклізумаб, зенапакс™), що показали свою ефективність у пацієнтів, які перенесли трансплантацію органів (див., наприклад, Wiseman et al., 1999, Drugs 58, 1029-1042; Beniaminovitz et al., 2000, N. Engl. J. Med. 342, 613-619; Ponticelli et al., 1999, Drugs R. D. 1, 55-60; Berard et al., 1999, Pharmacotherapy 19, 1127-1137; Eckhoff et al., 2000, Transplantation 69, 1867-1872; Ekberg et al., 2000, Transpl. Int. 13, 151-159). Додаткові імуносупресанти містять у собі, але не обмежуються ними, анти-CD2-препарати (Branco et al., 1999, Transplantation 68, 1588-1596; Przepiorka et al., 1998, Blood 92, 4066-4071), анти-CD4-препарати (Marinova-Mutafchieva et al., 2000, Arthritis Rheum. 43, 638-644; Fishwild et al., 1999, Clin. Immunol. 92, 138-152) і анти-CD40-ліганд (Hong et al., 2000, Semin. Nephrol. 20, 108-125; Chirmule et al., 2000, J. Virol. 74, 3345-3352; Ito et al., 2000, J. Immunol. 164, 1230-1235).

Разом з комбінованою терапією згідно із даним винаходом можна застосовувати будь-яку комбінацію імуносупресантів, відомих кваліфікованому фахівцю в даній галузі. Однією з

особливо корисних комбінацій імуносупресантів є комбінація такролімусу (FK506) із сиролімусом (рапаміцин) і даклізумабом (антитіла до альфа-субодиниці рецептора IL2). Ця комбінація показала себе ефективною як альтернатива стероїдам і циклоспорину, особливо відносно печінки. Крім того, ця комбінація, як було нещодавно показано, дає можливість виконувати успішну трансплантацію клітин острівців підшлункової залози. Див. Denise Grady, The New York Times, Saturday, May 27, 2000, pages A1 and A11. Див. також A. M. Shapiro et al., Jul. 27, 2000, "Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen", N. Engl. J. Med. 343, 230-238; Ryan et al., 2001, Diabetes 50, 710-719. Для видалення або зниження рівня антитіл, що можуть виникнути проти різних компонентів комбінованої терапії, можна також застосовувати плазмаферез, проведений будь-яким способом, відомим у даній галузі.

Показники імунного статусу, які можна застосовувати відповідно до даного винаходу, містять у собі, але не обмежуються ними, антитіла і будь-які цитокіни, відомі кваліфікованому фахівцю в даній галузі, - наприклад, інтерлейкіни, CSF і інтерферони (див., головним чином, Leonard et al., 2000, J. Allergy Clin. Immunol. 105, 877-888; Oberholzer et al., 2000, Crit. Care Med. 28 (4 Suppl.), N3-N12; Rubinstein et al., 1998, Cytokine Growth Factor Rev. 9, 175-181). Наприклад, для визначення імунного статусу суб'єкта можна стежити за рівнем антитіл, специфічно імунореактивних до замісного ферменту. Серед десятків відомих інтерлейкінів особливо переважними індикаторами імунного статусу є IL-1-альфа, IL-2, IL-4, IL-8 і IL-10. Серед колонієстимулюючих факторів (CSF) особливо переважними індикаторами імунного статусу є G-CSF, GM-CSF і M-CSF. Серед інтерферонів переважними індикаторами імунного статусу є один або більше із членів групи, яка включає в себе альфа-, бета- або гамма-інтерферони.

У нижченаведених розділах вказані різноманітні компоненти, які можна застосовувати при восьми конкретних хворобах лізосомного накопичення (хвороба Гоше (включаючи типи 1, 2 і 3), хвороба Фабрі, хвороба Німанна-Піка В, хвороба Хантера, хвороба Моркіо, хвороба Марото-Ламі, хвороба Помпе і хвороба Гурлера-Шейє). У наступних розділах надане подальше розкриття компонентів, що роблять можливими ферментозамісну терапію і терапію малими молекулами згідно із даним винаходом.

Хвороба Гоше

Як відзначено вище, хвороба Гоше викликається дефіцитом ферменту глюкоцереброзидази (бета-D-глюкозил-N-ацилсфінгозин-глюкогідролаза, КФ 3.2.1.45) і накопиченням глюкоцереброзиду (глюкозилцераміду). Для ферментозамісної терапії як компонента комбінованої терапії згідно із даним винаходом для лікування хвороби Гоше доступний ряд літературних джерел, що інформують про достатні дози і режими дозування і містять інші корисні дані, що стосуються лікування (див. Morales, 1996, Gaucher's Disease: A Review, The Annals of Pharmacotherapy 30, 381-388; Rosenthal et al., 1995, Enzyme Replacement Therapy for Gaucher Disease: Skeletal Responses to Macrophage-targeted Glucocerebrosidase, Pediatrics 96, 629-637; Barton et al., 1991, Replacement Therapy for Inherited Enzyme Deficiency--Macrophage-targeted Glucocerebrosidase for Gaucher's Disease, New England Journal of Medicine 324, 1464-1470; Grabowski et al., 1995, Enzyme Therapy in Type 1 Gaucher Disease: Comparative Efficacy of Mannose-terminated Glucocerebrosidase from Natural and Recombinant Sources, Annals of Internal Medicine 122, 33-39; Pastores et al., 1993, Enzyme Therapy in Gaucher Disease Type 1: Dosage Efficacy and Adverse Effects in 33 Patients treated for 6 to 24 Months, Blood 82, 408-416); і Weinreb et al., Am. J. Med.; 113 (2): 112-9 (2002).

В одному варіанті здійснення даного винаходу наданий режим дозування ERT, при якому уводять від 2,5 одиниць ферменту на кілограм (Од/кг) три рази на тиждень до 60 Од/кг один раз кожні два тижні за допомогою внутрішньовенного уливання тривалістю 1-2 години. Одиниця глюкоцереброзидази визначена як кількість ферменту, що каталізує гідролізу одного мікромоля синтетичного субстрату (пара-нітрофеніл-п-D-глюкопіранозиду) на хвилину при 37 °C. В іншому варіанті здійснення даного винаходу наданий режим дозування, при якому уводять від 1 Од/кг три рази на тиждень до 120 Од/кг один раз кожні два тижні. У ще одному іншому варіанті здійснення даного винаходу наданий режим дозування, при якому уводять від 0,25 Од/кг щодня або три рази на тиждень до 600 Од/кг один раз кожні 2-6 тижнів.

З 1991 року став доступним препарат алглуцераза (цередаза®) від Genzyme Corporation. Алглуцераза являє собою модифіковану форму глюкоцереброзидази, виділеної з плаценти. У 1994 році став доступним і препарат іміглуцераза (церезим®), також від Genzyme Corporation. Іміглуцераза є модифікованою формою глюкоцереброзидази, виробленою за допомогою експресії рекомбінантної ДНК у системі культури клітин ссавця (клітини яєчника китайського хом'ячка). Іміглуцераза являє собою мономерний глікопротеїн, що складається з 497 амінокислот і містить чотири сайти N-глікозилування. Іміглуцераза вигідна тим, що, теоретично,

її постачання не мають обмежень, і, на відміну від плацентарної аглуцерази, для неї характерна менша імовірність наявності біологічних забруднень. Ці ферменти модифікують по сайтах глікозилювання, експонуючи залишки манози - прийом, що підвищує ступінь її потрапляння в лізосому, опосередкованого рецептором манозо-6-фосфату. Іміглуцераза відрізняється від плацентарної глюкоцереброзидази однією амінокислотою в положенні 495, де аргінін замінений гістидином. Схеми введення ефективних доз відомі (див. Morales, 1996, Id.; Rosenthal et al., 1995, Id.; Barton et al., 1991, Id.; Grabowski et al., 1995, Id.; Pastores et al., 1993, Id.). Наприклад, клінічно ефективний режим дозування, при якому суб'єктам з помірною і тяжкою формою захворювання вводять по 60 Од/кг один раз кожні два тижні. Кваліфікованому практичному лікарю варто ознайомитися з вищевказаними джерелами і з інструкцією з застосування, прикладеною до упаковки препарату, для одержання інформації про додаткові режими дозування і способи введення. Див. також патенти США №№ 5236838 і 5549892, видані Genzyme Corporation.

Як відзначено вище, хвороба Гоше являє собою результат дефіциту лізосомного ферменту глюкоцереброзидази (GC). У найбільш поширеному фенотипі хвороби Гоше (тип 1) патологія обмежена ретикулоендотеліальною і скелетною системами без неврологічних симптомів. Див. Barranger, Glucosylceramide lipidosis: Gaucher disease. In: Scriver CR BA, Sly WS, Valle D, editor. The Metabolic Basis of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill. pp. 3635-3668 (2001). При невропатичній хворобі Гоше (nGD), що підрозділяється на хворобу Гоше типу 2 і типу 3, дефіцит глюкоцереброзидази (GC) викликає накопичення глікозилцераміду (GluCer; GL-1) і глікозилсфінгозину (GluSph) у мозку, приводячи до неврологічних порушень. Хвороба Гоше типу 2 характеризується раннім початком, швидким прогресивним перебігом, великою патологією внутрішніх органів і центральної нервової системи; смерть настає у віці 2 років. Хвороба Гоше типу 3, також відома як підгостра форма nGD, являє собою проміжний фенотип з різним віком початку захворювання при різному ступені тяжкості і швидкості прогресивного перебігу. Goker-Alpan et al., The Journal of Pediatrics 143: 273-276 (2003). Нещодавно була створена модель хвороби Гоше типу 2 у мишей K14 Inl/Inl (далі "миші K14"); ця модель у мишей, що характеризується атаксією, судомами, спастичністю і медіаною тривалості життя, зменшеною усього лише до 14 днів, дуже схожа з відповідним захворюванням людей. Enquist et al., PNAS 104: 17483-17488 (2007).

Як і в пацієнтів з nGD, деякі моделі цього захворювання в мишей мають підвищені рівні GluCer і GluSph у мозку внаслідок недостатньої активності GC. Liu et al., PNAS 95: 2503-2508 (1998) і Nilsson, J. Neurochem 39: 709-718 (1982). Миші "K14" демонструють невропатичний фенотип, який схожий із хворобою Гоше типу 2 по багатьох патологічних ознаках (таких як нейродегенерація, астрогліоз, мікрогліальна проліферація і підвищені рівні GluCer і GluSph у специфічних ділянках мозку. Enquist et al. (2007).

Клінічне ведення пацієнтів, що страждають на nGD, є для лікуючих лікарів складною проблемою, як через тяжкість захворювання типу 2, так і внаслідок нездатності засобів, застосовуваних у сучасній терапії, проникати через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ). Сучасне лікування інших форм захворювання (відмінних від nGD) ґрунтується на внутрішньовенному введенні рекомбінантної глюкоцереброзидази людини (іміглуцераза, церезим™) для заповнення браку ферменту або на введенні інгібіторів глікозилцерамід-синтази для зменшення продукування субстрату (GL-1). Однак ці лікарські засоби не проникають через гематоенцефалічний бар'єр і тому не можуть бути ефективними в пацієнтів з nGD. Сучасні низькомолекулярні інгібітори глікозилцерамід-синтази, застосовувані в клініці, очевидно, неефективні відносно невропатичних фенотипів nGD. Випробування однієї зі сполук згідно із даним винаходом - хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-ил)-пропан-2-іл)-карбамату (далі "Gz161") - на моделі хвороби Гоше типу 2 у мишей K14 продемонструвало, що вона дійсно знижує рівні GluCer і GluSph у мозку (див. Приклади 122-125). Крім того, у цій моделі вона послаблює невропатологію мозку і продовжує тривалість життя. Більше того, комбінований підхід, при якому ферментозамісна терапія і терапія малими молекулами, знижують рівень субстрату, може виявитися найкращим способом лікування хвороби Гоше типу 2.

Хвороба Фабрі

Як відзначено вище, хвороба Фабрі викликається дефіцитом лізосомального ферменту альфа-галактозидази А. Цей ензимологічний дефект приводить до системного відкладення глікосфінголіпідів, що мають альфа-галактозильні кінцеві фрагменти (переважно, глоботриаозилцерамідні (GL3 або Gb3) і, у меншому ступені, церамідні), і глікосфінголіпіди групи В.

Для моніторингу перебігу захворювання і визначення моменту, коли необхідно змінити один спосіб лікування іншим, є декілька доступних аналітичних методик. В одному варіанті

здійснення даного винаходу можна застосовувати методику визначення питомої активності альфа-галактозидази А у зразку тканини. В іншому варіанті здійснення даного винаходу можна застосовувати методику визначення накопичення Gb3. В іншому варіанті здійснення даного винаходу практичний лікар може досліджувати накопичення глікосфінголіпідних субстратів у біологічних рідинах організму й у лізосомах судинних ендотеліальних, перителіальних і гладком'язових клітин кровоносних судин. Інші клінічні прояви, що можуть бути корисними показниками при веденні захворювання, містять у собі протеїнурію й інші ознаки ураження нирок, такі як еритроцити і ліпідні глобули в сечі і підвищена швидкість осідання еритроцитів. Можна також моніторувати анемію, знижену концентрацію заліза в сироватці, високу концентрацію бета-тромбоглобуліну і збільшену чисельність ретикулоцитів або агрегацію тромбоцитів. Фактично, для моніторингу перебігу захворювання можна використовувати будь-який спосіб, відомий кваліфікованому фахівцю в даній галузі (див. наприклад, Desnick RJ et al., 1995, Alpha-galactosidase A Deficiency: Fabry Disease, In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver et al., eds., McGraw-Hill, N.Y., 7.sup.th ed., pages 2741-2784).

Переважним сурогатним маркером для моніторингу ведення хвороби Фабрі є біль. До інших переважних способів належать вимірювання загального кліренсу ферменту і/або субстрату і рідин організму або аналіз зразків, одержуваних при біопсії. Переважний режим дозування для ферментозамісної терапії при хворобі Фабрі - 1-10 мг/кг внутрішньовенно через день. Можна застосовувати і режим дозування, при якому внутрішньовенно вводять від 0,1 до 100 мг/кг із частотою від одного разу на два дні до одного разу щотижня або кожні два тижні.

Хвороба Німанна-Піка В

Як відзначено вище, хвороба Німанна-Піка В викликається зниженою активністю лізосомального ферменту кислої сфінгомелінази і накопиченням мембранного ліпиду, у першу чергу, сфінгомеліну. Ефективна доза замісної кислої сфінгомелінази може бути в діапазоні від приблизно 0,01 мг/кг до приблизно 10 мг/кг маси тіла, при введенні від одного разу на два дні до одного разу щотижня, одного разу кожні два тижні або одного разу кожні два місяці. В інших варіантах здійснення даного винаходу ефективна доза може бути в діапазоні від приблизно 0,03 мг/кг до приблизно 1 мг/кг; від приблизно 0,03 мг/кг до приблизно 0,1 мг/кг; і/або від приблизно 0,3 мг/кг до приблизно 0,6 мг/кг. У конкретному варіанті здійснення даного винаходу пацієнту вводять кислоту сфінгомеліназу в режимі зростаючих доз у наступній послідовності: 0,1 мг/кг; 0,3 мг/кг; 0,6 мг/кг; і 1,0 мг/кг, коли кожен дозу кислоту сфінгомелінази вводять щонайменше двічі і кожен дозу вводять із двотижневими інтервалами, проводячи моніторинг пацієнта для виявлення токсичних побічних ефектів перед підвищенням дози до наступного рівня (див. опубліковану заявку на патент США № 2011/0052559).

Хвороба Гурлера-Шейє (MPS I)

Хвороба Гурлера, хвороба Шейє і хвороба Гурлера-Шейє, також відомі як MPS I, викликаються інактивацією альфа-ідуронідази і накопиченням дерматансульфату і гепарансульфату. Для моніторингу перебігу MPS I є декілька доступних аналітичних методик. Наприклад, можна моніторувати ферментативну активність альфа-ідуронідази в зразках тканини, витягнутих при біопсії, або в культивованих клітинах, отриманих з периферійної крові. Крім того, традиційним засобом спостереження за перебігом захворювання при MPS I і інших мукополісахаридозах є визначення екскреції глікозаміногліканів (дерматансульфату і гепарансульфату) із сечею (див. Neufeld et al., 1995, Id.). У конкретному варіанті здійснення даного винаходу фермент альфа-ідуронідазу вводять один раз на тиждень у вигляді внутрішньовенного уливання в дозі 0,58 мг/кг маси тіла.

Хвороба Хантера (MPS II)

Хвороба Хантера (або MPS II) викликається інактивацією ідуонатсульфатази і накопиченням дерматансульфату і гепарансульфату. Хвороба Хантера має клінічно тяжкі і легкі форми. Переважним є режим дозування терапевтичного ферменту, при якому вводять від 1,5 мг/кг кожні два тижні до 50 мг/кг щотижня.

Хвороба Моркіо (MPS IV)

Синдром Моркіо (або MPS IV) є результатом накопичення кератансульфату внаслідок інактивації будь-якого з двох ферментів. При MPS IVA інактивованим ферментом є галактозамін-6-сульфатаза, а при MPS IVB інактивованим ферментом є бета-галактозидаза. Переважним є режим дозування терапевтичного ферменту, при якому вводять від 1,5 мг/кг кожні два тижні до 50 мг/кг щотижня.

Хвороба Марото-Ламі (MPS VI)

Синдром Марото-Ламі (або MPS VI) викликається інактивацією галактозамін-4-сульфатази (арилсульфатази В) і накопиченням дерматансульфату. Режимом дозування, який надається ферментозамісною терапією, є введення ефективного терапевтичного ферменту в

переважному діапазоні від 1,5 мг/кг кожні два тижні до 50 мг/кг щотижня. У необов'язковому варіанті, застосовувана доза складає не більше 10 мг/кг на тиждень. Переважним сурогатним маркером для спостереження за перебігом захворювання при MPS VI є рівні протеогліканів.

Хвороба Помпе

Хвороба Помпе викликається інактивацією ферменту кислої альфа-глюкозидази і накопиченням глікогену. Ген кислої альфа-глюкозидази людини (що позначається GAA) знаходиться на хромосомі 17. H.G.Hers першим запропонував концепцію вродженого лізосомного захворювання, ґрунтуючись на своїх дослідженнях цього захворювання, що він називав хворобою накопичення глікогену типу II (GSD II) і яке в даний час називають дефіцитом кислої мальтази (AMD) (див. Hers, 1965, *Gastroenterology* 48, 625). У конкретному варіанті здійснення даного винаходу GAA вводять кожні 2 тижні у вигляді внутрішньовенного уливання в дозі 20 мг/кг маси тіла.

Для моніторингу перебігу хвороби Помпе є декілька доступних аналітичних методик. Можна застосовувати будь-який аналітичний спосіб, відомий кваліфікованому фахівцю в даній галузі. Наприклад, можна досліджувати накопичення гранул глікогену усередині лізосом, особливо в серцевому м'язі, печінці й у волокнах скелетних м'язів, отриманих при біопсії. Ферментативну активність альфа-глюкозидази можна також просліджувати в зразках біопсії або в культивованих клітинах периферійної крові. Як показник перебігу захворювання можна моніторувати підвищення креатинкінази (СК) у сироватці. У пацієнтів з початком захворювання в дитячому віці сироваткова СК може бути підвищеною до десятикратного рівня; у пацієнтів, захворювання яких почалося в дорослому віці, вона звичайно підвищується в меншому ступені. Див. Hirschhorn R, 1995, *Glycogen Storage Disease Type II: Acid alpha-Glucosidase (Acid Maltase) Deficiency*, In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, Scriver et al., eds., McGraw-Hill, N.Y., 7.sup.th ed., pages 2443-2464.

Ферментозамісна терапія

Нижченаведені розділи описують конкретне розкриття й альтернативні варіанти здійснення ферментозамісної терапії як компонента комбінованої терапії згідно із даним винаходом. Як правило, режими дозування для ферментозамісної терапії як компонента комбінованої терапії згідно із даним винаходом звичайно визначає кваліфікований фахівець у даній галузі. Деякі приклади режимів дозування при лікуванні хвороби Гоше глюкоцереб্রозидазою надані вище. Загальні принципи визначення режиму дозування для будь-якого даного способу ERT як компонента комбінованої терапії згідно із даним винаходом для лікування будь-якої форми LSD будуть зрозумілі кваліфікованому фахівцю в даній галузі з загальнодоступної інформації - наприклад з оглядів конкретних джерел, вказаних у розділах, присвячених кожній конкретній формі LSD. Засоби ERT можна вводити пацієнту шляхом внутрішньовенного уливання. Для проведення ERT у пацієнта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення з проявами в ЦНС можна також застосовувати інтрацеребровентрикулярне і/або інтратекальне уливання (наприклад, на додаток до внутрішньовенного уливання).

Для виготовлення препаратів ферментів, застосовуваних при ферментозамісній терапії, яка проводиться як компонент комбінованої терапії згідно із даним винаходом, можна застосовувати будь-який спосіб, відомий у даній галузі техніки. Відомо багато таких способів, вони містять у собі, але не обмежуються цим, технологію активації генів, розроблену Shire plc (див. Патенти США №№ 5968502 і 5272071).

Терапія малими молекулами

Наступний розділ також описує конкретні розкриття й альтернативні варіанти здійснення, доступні для терапії малими молекулами, яка проводиться як компонент комбінованої терапії згідно із даним винаходом. Режими дозування при терапії малими молекулами, яка проводиться як компонент комбінованої терапії згідно із даним винаходом, звичайно визначає кваліфікований клініцист, причому вони будуть значно варіювати залежно від конкретної хвороби накопичення, лікування якої необхідно проводити, і клінічного стану конкретного хворого індивіда. Загальні принципи визначення режиму дозування для даного способу терапії малими молекулами, яка проводиться як компонент будь-якої комбінованої терапії будь-якої хвороби накопичення згідно із даним винаходом, добре відомі кваліфікованому фахівцю в даній галузі. Керівні вказівки по режимах дозування можна одержати в будь-якому з багатьох добре відомих джерел по цій темі в даній галузі. Додаткові рекомендації доступні, між іншим, в огляді конкретних джерел, посилення на які подані в даному документі.

Як правило, сполуки згідно із даним винаходом, такі як, наприклад, (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамат і хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-ил)-пропан-2-іл)-карбамат можна застосовувати в комбінованій терапії згідно із даним винаходом для лікування практично будь-якої хвороби накопичення, обумовленої порушеннями в

глікосфінголіпідному шляху (наприклад, хвороби Гоше, хвороби Фабрі, G_{M1} -гангліозидозу і G_{M2} -гангліозидозів (наприклад, дефіциту активатора $GM2$, хвороби Тея-Сакса і хвороби Сандхоффа)). Аналогічним чином, аміноглікозиди (наприклад, гентаміцин, G418) можна застосовувати в комбінованій терапії згідно із даним винаходом для лікування будь-якого індивіда з хворобою накопичення, що має мутацію з передчасним стоп-кодоном (тобто нонсенс-мутацію). Такі мутації особливо переважають при синдромі Гурлера. Терапія малими молекулами як компонент комбінованої терапії згідно із даним винаходом є особливо переважною для лікування хвороби накопичення з ознаками порушень у центральній нервовій системі (наприклад, при хворобі Сандхоффа, хвороби Тея-Сакса, хвороби Німанна-Піка типу А і хвороби Гоше типів 2 і 3), оскільки малі молекули звичайно можуть легше проникати через гематоенцефалічний бар'єр у порівнянні із засобами, застосовуваними при інших способах лікування.

Переважні дози інгібіторів накопичення субстратів, застосовувані в комбінованій терапії згідно із даним винаходом, може легко визначити кваліфікований фахівець у даній галузі. У визначених варіантах здійснення даного винаходу такі дози можуть бути в діапазоні від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 300 мг/кг, переважно, від приблизно 5 мг/кг до приблизно 60 мг/кг (наприклад, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15, мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 35 мг/кг, 40 мг/кг, 45 мг/кг, 50 мг/кг, 55 мг/кг і 60 мг/кг) при внутрішньоочеревинному, пероральному або еквівалентному введенні від одного до п'яти разів на день. Такі дози можуть бути в діапазоні від приблизно 5 мг/кг до приблизно 5 г/кг, переважно, від приблизно 10 мг/кг до приблизно 1 г/кг при пероральному, внутрішньоочеревинному або еквівалентному введенні від одного до п'яти разів на день. В одному варіанті здійснення даного винаходу дози знаходяться в діапазоні від приблизно 10 мг/день до приблизно 500 мг/день (наприклад, 10 мг/день, 20 мг/день, 30 мг/день, 40 мг/день, 50 мг/день, 60 мг/день, 70 мг/день, 80 мг/день, 90 мг/день, 100 мг/день, 110 мг/день, 120 мг/день, 130 мг/день, 140 мг/день, 150 мг/день, 160 мг/день, 170 мг/день, 180 мг/день, 190 мг/день, 200 мг/день, 210 мг/день, 220 мг/день, 230 мг/день, 240 мг/день, 250 мг/день, 260 мг/день, 270 мг/день, 280 мг/день, 290 мг/день, 300 мг/день). Особливо переважна пероральна доза знаходиться в діапазоні від приблизно 50 мг до приблизно 100 мг, причому цю дозу вводять два рази на день. Конкретний діапазон пероральних доз сполуки згідно із даним винаходом складає від приблизно 5 мг/кг/день до приблизно 600 мг/кг/день. Зокрема, діапазон пероральних доз для сполуки згідно із даним винаходом складає від приблизно 1 мг/кг/день до приблизно 100 мг/кг/день, наприклад, 1 мг/кг/день, 5 мг/кг/день, 10 мг/кг/день, 15 мг/кг/день, 20 мг/кг/день, 25 мг/кг/день, 30 мг/кг/день, 35 мг/кг/день, 40 мг/кг/день, 45 мг/кг/день, 50 мг/кг/день, 55 мг/кг/день або 60 мг/кг/день, 65 мг/кг/день, 70 мг/кг/день, 75 мг/кг/день, 80 мг/кг/день, 85 мг/кг/день, 90 мг/кг/день, 95 мг/кг/день або 100 мг/кг/день.

Переважним є циклічне чергування способів лікування (тобто ферментозамісної терапії і терапії малими молекулами). Однак при необхідності, обумовленої кваліфікованим клініцистом, суб'єктів можна також лікувати з перекриванням періодів застосування обох способів. Приклади схем лікування можуть містити в собі, не обмежуючись ними, наступні: (1) SMT з наступною ERT; (2) ERT з наступною SMT; і (3) ERT і SMT, проведені приблизно в той самий час. Як відзначено вище, при необхідності можна також здійснювати перекривання періодів застосування різних способів лікування залежно від клінічного перебігу даної хвороби накопичення в даного суб'єкта.

Лікувальні інтервали для різних форм комбінованої терапії можуть широко варіювати і бути різними при різних хворобах накопичення й у різних індивідів, залежно від того, наскільки інтенсивно акумулюються продукти накопичення. Наприклад, акумулювання продуктів накопичення при хворобі Фабрі може бути повільним у порівнянні зі швидким їх накопиченням при хворобі Помпе. Кваліфікований фахівець у даній галузі, просліджуючи клінічні ознаки перебігу захворювання й успіх лікування, здійснює поступовий підбір режиму лікування конкретної хвороби накопичення в конкретного індивіда.

Різноманітні макромолекули, які накопичуються при хворобах лізосомного накопичення, розподіляються не однорідно, а утворюють відкладення в певних переважних анатомічних ділянках, специфічних для кожного захворювання. Однак фермент, що ендегенно вводиться, як правило, поглинається клітинами ретикулоендотеліальної системи і спрямовується в лізосомальний компартмент, де він діє, гідролізуючи накопичений субстрат. Крім того, клітинне поглинання терапевтичного ферменту можна посилювати певними специфічними прийомами, що підвищують ступінь його потрапляння в лізосоми (див., наприклад, патент США № 5549892 (Friedman et al.), виданий Genzyme Corporation, який описує рекомбінантну глюкоцереброзидазу, фармакокінетика якої поліпшена завдяки перемодельюванню

олігосахаридних бічних ланцюгів, які упізнаються манозними рецепторами на поверхнях клітин, що здійснюють ендоцитоз і транспорт в лізосоми).

Деякі способи лікування діють на деякі уражені органи краще, ніж на інші. Наприклад, при хворобі Фабрі, якщо ERT недостатньо клінічно ефективно діє на нирки, для зниження рівнів субстрату в нирках можна застосовувати SMT. Як показано в Прикладі 112 і на Фіг. 6B, SMT більш ефективна, ніж ERT, знижувала рівні Gb3 (субстрат, що накопичується у пацієнтів з хворобою Фабрі) в сечі мишей з моделлю хвороби Фабрі. Вважається, що нирки є головним джерелом Gb3, присутнього в сечі. На відміну від цього, Фіг. 6B показує, що ERT більш ефективна, ніж SMT, знижувала рівні Gb3 в плазмі. Ці результати демонструють, що комбінована терапія ERT і SMT надає комплементарну терапевтичну стратегію, яка використовує переваги і ефективність кожного з цих способів лікування, що застосовуються у вигляді монотерапії, і долає їх слабкості. Засоби, що застосовуються при SMT, здатні проникати через ГЕБ, завдяки чому, в поєднанні з ERT, надається ефективний спосіб лікування хвороб лізосомного накопичення з виявами патології ЦНС, таких як тип А хвороби Німанна-Піка і невропатична хвороба Гоше (nGD). Більше того, зменшення кількості субстрату, здійснюване SMT, що комбінується з ферментозамісною терапією, вирішує проблему накопичення, здійснюючи втручання в різних специфічних точках, завдяки чому можливе підвищення клінічної ефективності.

Потрібно розуміти, що посилення на одночасне або співпадаюче проведення двох або більше способів лікування не вимагає того, щоб їх проводили в один і той же час, тобто щоб вони діяли на суб'єкта в один і той же час.

Приклад 1

Хінуклідин-3-іл-1-фенілциклобутилкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 1-фенілциклобутанаміну (100 мг, 0,540 ммоль) і хінуклідин-3-олу (103 мг, 0,810 ммоль) отримували хінуклідин-3-іл-1-фенілциклобутилкарбамат (76 мг, 47 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,43 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,34 (т, J=7,7 Гц, 2H), 7,23 (т, J=7,3 Гц, 1H), 5,75-5,25 (м, 1H), 4,60 (шир. с, 1H), 3,25-2,22 (м, 9H), 2,16-2,03 (м, 1H), 2,02- 0,94 (м, 6H), 0,88 (т, J=6,8 Гц, 1H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 158,1, 128,5, 126,9, 125,6, 71,4, 59,4, 55,7, 47,5, 46,6, 34,0, 31,8, 29,9, 25,5, 24,7, 22,9, 19,7, 15,3, 14,4 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,62 хв.; (M+1) 331.

Приклад 2

Хінуклідин-3-іл-2-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру В, бензо[d][1,3]діоксол-5-карбонітрил (1,00 г, 6,81 ммоль) перетворювали до гідрохлориду 2-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-пропан-2-аміну (692 мг, 47%).

Застосовуючи загальну процедуру А, з вищезгаданої амонійхлоридної сполуки (150 мг, 0,695 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-пропан-2-ілкарбамат (125 мг, 54 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,91 (дд, J=1,9 Гц, 1H), 6,87 (дд, J=1,9, 8,2 Гц, 1H), 6,75 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,93 (с, 2H), 5,12 (с, 1H), 4,69-4,66 (м, 1H), 3,26-2,11 (м, 7H), 2,03-1,07 (м, 4H), 1,63 (с, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 156,7, 147,9, 118,0, 108,1, 106,1, 101,2, 71,2, 55,9, 55,3, 47,6, 46,7, 29,9, 29,7, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 97,5 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,65 хв.; (M+1) 333.

Приклад 3

Хінуклідин-3-іл-2-(нафталін-1-іл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(нафталін-1-іл)-пропан-2-аміну (100 мг, 0,450 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(нафталін-1-іл)-пропан-2-ілкарбамат (115 мг, 59 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,79-8,46 (м, 1H), 7,99-7,72 (м, 2H), 7,69-7,36 (м, 4H), 5,86-5,37 (м, 1H), 4,72-4,34 (м, 1H), 3,25-2,20 (м, 6H), 2,16-0,41 (м, 5H), 1,93 (с, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 154,6, 135,2, 130,7, 129,7, 128,8, 125,9, 125,3, 123,9, 72,2, 71,1, 56,5, 55,7, 47,6, 46,6, 31,8, 31,2, 25,5, 24,8, 22,9, 19,7, 14,4 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,80 хв.; (M+1) 339.

Препаративна процедура I

Приклад 4

(R)-хінуклідин-3-іл-2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-ілкарбамат

До розчину (R)-хінуклідин-3-олу (194 мг, 1,52 ммоль) в THF (5 мл) при кімнатній температурі додавали NaN [60%, масло] (64 мг, 1,6 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 15 хв. і по краплях додавали 1-(2-ізоціанатопропан-2-іл)-3-(проп-1-ен-2-іл)-бензол (302 мкл, 1,53 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 30 хв. і гасили насиченим сольовим розчином. Розчин екстрагували EtOAc і органічний шар сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в

MeOH), отримуючи відповідний карбамат (475 мг, 95%) у вигляді прозорого масла. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,49 (с, 1H), 7,31 (шир. с, 3H), 5,33 (с, 1H), 5,17 (с, 1H), 5,08 (с, 1H), 4,77-4,61 (м, 1H), 3,33-2,27 (м, 5H), 2,14 (с, 3H), 2,25-0,75 (м, 6H), 1,68 (шир. с, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,7, 147,2, 143,7, 141,6, 128,5, 124,2, 122,1, 112,8, 70,9, 55,7, 55,5, 47,5, 46,6, 32,2, 31,5, 29,9, 29,6, 25,5, 24,6, 22,9, 22,2, 19,6 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,84 хв.; (M+1) 329,2. Анал. розрахунок для $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 0,06 (\text{CHCl}_3)$: C, 71,59; H, 8,40; N, 8,58. Знайдено: C, 71,51; H, 9,05; N, 8,60.

Препаративна процедура J

Приклад 5

Хінуклідин-3-іл-2-(3-ізопропоксибеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Розчин 3-ціанофенолу (1,00 г, 8,39 ммоль), 2-йодпропану (839 мкл, 8,39 ммоль) і карбонату цезію (2,73 г, 8,39 ммоль) в суміші $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1, 16 мл) перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і фільтрували через целіт. Фільтрат концентрували і неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CH_2Cl_2), отримуючи відповідний простий ефір (763 мг, 57 %) у вигляді білої твердої речовини.

Застосовуючи загальну процедуру B, 3-ізопропоксибензонітрил (763 мг, 4,24 ммоль) перетворювали у відповідний 2-(3-ізопропоксибеніл)-пропан-2-амін (362 мг, 45%) у вигляді прозорого масла.

Застосовуючи загальну процедуру A, з вищезгаданого аміну (100 мг, 0,520 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(3-ізопропоксибеніл)-пропан-2-ілкарбамат (110 мг, 61 %) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,17 (т, J=7,9 Гц, 1H), 6,92 (д, J=7,8 Гц, 1H), 6,89 (т, J=2,1 Гц, 1H), 6,70 (д, J=8,1 Гц, 1H), 5,38-5,13 (м, 1H), 4,58 (шир. с, 1H), 4,49 (гепт, J=6,1 Гц, 1H), 3,31-2,04 (м, 6H), 2,00-0,79 (м, 5H) 1,60 (шир. с, 6H), 1,28 (д, J=6,1 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 158,1, 129,5, 117,2, 113,6, 71,1, 69,9, 55,8, 55,4, 47,6, 46,6, 29,4, 25,6, 24,8, 22,3, 19,7 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,83 хв.; (M+1) 347.

Приклад 6

Хінуклідин-3-іл-2-(3-бром-2-фторбеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру A, з 2-(3-бром-2-фторбеніл)-пропан-2-аміну (1,0 г, 4,3 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(3-бром-2-фторбеніл)-пропан-2-ілкарбамат (957 мг, 58 %) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,45 (ддд, J=1,6, 6,3, 7,9 Гц, 1H), 7,31 (тд, J=1,6, 7,7 Гц, 1H), 6,99 (тд, J=1,0, 8,0 Гц, 1H), 5,31-5,15 (шир. с, 1H), 4,59 (шир. с, 1H), 3,25-2,19 (м, 6H), 2,06-0,81 (м, 5H), 1,73 (с, 3H), 1,71 (с, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 158,1, 155,6, 132,5, 127,1, 127,0, 124,8, 124,8, 110,6, 110,4, 71,5, 55,7, 54,2, 47,5, 46,7, 29,9, 28,4, 25,5, 24,8, 19,7 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,79 хв.; (M+1) 385.

Приклад 7

(+/-)-Хінуклідин-3-іл-(1R, 2S)-2-фенілциклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру A, з (+/-)-(1S,2R)-2-ізоціанатоциклопропіл-бензолу (117 мкл, 0,780 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували (+/-)-хінуклідин-3-іл-(1R, 2S)-2-фенілциклопропілкарбамат (63 мг, 28 %) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,30-7,05 (м, 5H), 5,43 (шир. с, 1H), 4,77 (шир. с, 1H), 3,23 (дд, J=9,0, 14,0 Гц, 1H), 2,97-2,65 (м, 6H), 2,15-1,12 (м, 8H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 157,1, 140,7, 140,2, 128,5, 126,8, 126,3, 71,5, 55,7, 47,5, 46,6, 32,7, 25,6, 25,2, 24,5, 19,5, 16,2 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,67 хв.; (M+1) 287.

Приклад 8

Хінуклідин-3-іл-1-фенілциклогексилкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру A, з 1-фенілциклогексанаміну (36 мг, 0,21 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-1-фенілциклогексилкарбамат (40 мг, 58%) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,41 (д, J=7,4 Гц, 2H), 7,32 (т, J=7,7 Гц, 2H), 7,21 (т, J=7,3 Гц, 1H), 5,19-4,98 (шир. с, 1H), 4,70-4,56 (с, 1H), 3,34-0,83 (м, 21H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 158,4, 128,3, 126,5, 124,9, 57,2, 46,3, 36,1, 25,4, 24,2, 22,0, 19,2, 15,2 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,84 хв.; (M+1) 329.

Препаративна процедура K

Приклад 9

(R)-1-(2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-іл)-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовина

До розчину дигідрохлориду (R)-хінуклідин-3-аміну (120 мг, 0,603 ммоль) і 1-(2-ізоціанатопропан-2-іл)-3-(проп-1-ен-2-іл)-бензолу (119 мг, 0,597 ммоль) в THF (3 мл) додавали триетиламін (168 мкл, 1,21 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі

протягом 18 годин і потім гасили насиченим сольовим розчином. Суміш екстрагували CHCl_3 і органічний шар сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідну сечовину (163 мг, 50%) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,62 (т, $J=1,6$ Гц, 1H), 7,44 (дт, $J=1,9$, 7,0 Гц, 1H), 7,41-7,33 (м, 2H), 5,35 (шир. с, 1H), 5,11 (п, $J=1,4$ Гц, 1H), 4,84 (с, 1H), 4,21 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 3,70-3,61 (м, 1H), 3,13 (ддд, $J=2,3$, 9,3, 14,2 Гц, 1H), 2,71-2,54 (м, 3H), 2,30-2,22 (м, 1H), 2,15 (дд, $J=0,8$, 1,4, 3H), 2,05-1,96 (м, 1H), 1,65 (с, 3H), 1,64 (с, 3H), 1,65-1,60 (м, 1H) 1,54-1,45 (м, 2H), 1,22-1,12 (м, 1H), 0,95-0,80 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 157,4, 148,5, 143,8, 141,3, 128,4, 124,4, 123,8, 122,2, 112,6, 55,2, 53,4, 46,2, 46,1, 44,5, 30,5, 30,4, 25,0, 22,2, 17,7, 8,9 м. ч. Чистота: 97,5 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,83 хв.; (M+1) 328.

Приклад 10

1-(2-(Нафталін-2-іл)-пропан-2-іл)-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовина

Застосовуючи загальну процедуру В, нафталін-2-карбонітрил (1,00 г, 6,53 ммоль) перетворювали у відповідний 2-(нафталін-2-іл)-пропан-2-амін (294 мг, 25%), що отримується у вигляді прозорого масла.

Застосовуючи загальну процедуру С, з хінуклідин-3-аміну (102 мг, 0,808 ммоль), CDI (131 мг, 0,808 ммоль) і 2-(нафталін-2-іл)-пропан-2-аміну (150 мг, 0,819 ммоль) отримували 1-(2-(нафталін-2-іл)-пропан-2-іл)-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовину (132 мг, 49%) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,94-7,78 (м, 4H), 7,69 (дд, $J=2,0$, 8,7 Гц, 1H), 7,53-7,46 (м, 2H), 4,84 (с, 1H), 4,23 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 3,68-3,54 (м, 1H), 3,07 (ддд, $J=2,3$, 9,3, 14,1 Гц, 1H), 2,61-2,51 (м, 2H), 2,42-2,32 (м, 1H), 1,95-1,83 (м, 2H), 1,75 (с, 3H), 1,74 (с, 3H), 1,58-1,54 (м, 1H), 1,46-1,40 (м, 2H), 1,03-0,91 (м, 1H), 0,72-0,60 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 157,5, 143,7, 133,4, 132,8, 129,3, 128,1, 127,8, 126,9, 126,7, 124,4, 124,0, 57,0, 55,0, 47,1, 47,1, 46,6, 30,5, 30,3, 26,0, 25,9, 20,0 м. ч. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,71 хв.; (M+1) 338.

Приклад 11

1-(2-метил-2-(м-толіл)-пропіл)-3-(3-метилхінуклідин-3-іл)-сечовина

Застосовуючи загальну процедуру D, з гідрохлориду 2-метил-2-(м-толіл)-пропан-1-аміну (100 мг, 0,501 ммоль), триетиламіну (279 мкл, 2,00 ммоль), трифосгену (47 мг, 0,18 ммоль) і 2,2,2-трифторацетату 3-метилхінуклідин-3-аміну (140 мг, 0,550 ммоль) отримували 1-(2-метил-2-(м-толіл)-пропіл)-3-(3-метилхінуклідин-3-іл)-сечовину (41 мг, 25%) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,23 (т, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,18-7,12 (м, 2H), 7,04 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 4,12 (с, 1H), 4,08 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 3,39-3,22 (м, 2H), 2,81-2,62 (м, 6H), 2,34 (с, 3H), 1,98-1,89 (м, 1H), 1,80-1,63 (м, 2H), 1,51-1,23 (м, $J=26,9$ Гц, 2H), 1,37 (с, 3H), 1,30 (с, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 157,9, 147,1, 138,2, 128,6, 127,1, 127,1, 123,3, 64,0, 52,2, 52,1, 46,9, 46,7, 39,2, 31,2, 27,1, 26,8, 25,4, 23,5, 22,7, 21,9. Чистота: >99,9% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,79 хв.; (M+1) 330.

Приклад 12

1-(2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-іл)-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовина

Застосовуючи загальну процедуру С, з хінуклідин-3-аміну (380 мг, 3,01 ммоль), CDI (489 мг, 3,01 ммоль) і 2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-аміну (506 мг, 3,07 ммоль) отримували 1-(2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-іл)-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовину (560 мг, 59%) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,35-7,29 (м, 1H), 7,14-7,07 (м, 2H), 6,87-6,81 (ддд, 1H), 4,76 (с, 1H), 4,19 (д, 1H), 3,81 (с, 3H), 3,70-3,62 (м, 1H), 3,19-3,10 (м, 1H), 2,74-2,59 (м, 3H), 2,37-2,26 (м, 1H), 2,07-1,98 (дд, 1H), 1,80 (шир. с, 1H), 1,69-1,63 (м, 1H), 1,63 (с, 3H), 1,62 (с, 3H), 1,58-1,44 (м, 2H), 1,28-1,14 (м, 1H), 1,02-0,90 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 160,0, 157,5, 148,4, 129,9, 117,7, 112,0, 111,9, 56,7, 55,3, 54,6, 47,2, 46,8, 46,4, 30,1, 25,8, 20,0 м. ч. Чистота: >99,4% UPLCMS (210 нм); час утримування 1,73 хв.; (M+1) 318.

Приклад 13

Хінуклідин-3-іл-2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-(3-метоксибеніл)-пропан-2-аміну (327 мг, 1,98 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-ілкарбамат (370 мг, 59 %) у вигляді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,30-7,20 (м, 1H), 7,03-6,97 (м, 1H), 6,97-6,93 (м, 1H), 6,80-6,74 (дд, 1H), 5,18-5,00 (шир. с, 1H), 4,67-4,57 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,30-2,12 (шир.м, 7H), 2,02-1,00 (м, 10H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 159,7, 154,5, 149,0, 129,3, 117,2, 111,4, 111,0, 70,9, 55,7, 55,1, 47,4, 46,5, 29,4, 25,4, 24,6, 19,6 м. ч. Чистота: >99,9 % UPLCMS (210 нм); час утримування 1,85 хв.; (M+1) 319.

Приклад 14

Хінуклідин-3-іл-2-(3-метоксибеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 1-(4-метоксифеніл)-пропан-2-аміну (316 мг, 1,57 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(3-метоксифеніл)-пропан-2-ілкарбамат (370 мг, 59 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,33 (д, 2H), 6,86 (д, 2H), 5,15-5,01 (шир. с, 1H), 4,66-4,57 (м, 1H), 3,79 (с, 3H), 3,33-2,12 (м, 7H), 2,10-0,96 (м, 10H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 158,1, 154,5, 139,2, 125,8, 113,5, 70,7, 55,7, 55,2, 54,6, 47,2, 46,3, 31,2, 29,4, 25,3, 24,5, 19,4 м. ч. Чистота: >94,1 % UPLCMS (210 нм); час утримування 1,81 хв.; (M+1) 319.

Приклад 15

Хінуклідин-3-іл-2-(4-трет-бутилфеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-(4-трет-бутилфеніл)-пропан-2-аміну (348 мг, 1,82 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(4-трет-бутилфеніл)-пропан-2-ілкарбамат (427 мг, 68 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,34 (с, 4H), 5,09 (шир. с, 1H), 4,69-4,52 (м, 1H), 3,47-2,05 (м, 7H), 3,33-2,12 (м, 7H), 2,00-0,80 (м, 20H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 156,2, 149,4, 144,5, 125,3, 124,5, 70,9, 55,8, 55,1, 47,5, 46,6, 34,4, 31,4, 29,8, 29,3, 25,5, 24,6, 19,6 м. ч. Чистота: >98,2 % UPLCMS (210 нм); час утримування 2,29 хв.; (M+1) 345.

Приклад 16

Хінуклідин-3-іл-2-(4-ізопропілфеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-(4-ізопропілфеніл)-пропан-2-аміну (158 мг, 0,891 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(4-ізопропілфеніл)-пропан-2-ілкарбамат (205 мг, 70 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,33 (д, J=7,3 Гц, 2H), 7,19 (с, 1H), 7,17 (с, 1H), 5,09 (с, 1H), 4,69-4,51 (шир. с, 1H), 3,30-1,30 (м, 17H), 1,24 (с, 3H), 1,22 (с, 3H), 1,06-0,77 (м, 1H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 156,2, 147,1, 144,4, 126,4, 124,7, 70,9, 55,7, 55,0, 47,4, 46,5, 33,6, 29,8, 29,4, 25,4, 24,6, 24,0, 19,5 м. ч. Чистота: >98,3% UPLCMS (210 нм); час утримування 2,19 хв.; (M+1) 331.

Приклад 17

Хінуклідин-3-іл-2-(4-етилфеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-(4-етилфеніл)-пропан-2-аміну (230 мг, 1,41 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(4-етилфеніл)-пропан-2-ілкарбамат (248 мг, 56 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,33 (д, J=7,3 Гц, 2H), 7,19 (с, 1H), 7,17 (с, 1H), 5,09 (с, 1H), 4,69-4,51 (шир. с, 1H), 3,34-0,73 (м, 22H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 154,5, 144,3, 142,4, 127,8, 124,7, 71,0, 55,6, 55,1, 47,4, 46,5, 29,6, 28,3, 25,4, 24,6, 19,5, 15,8, 15,4 м. ч. Чистота: >99,5 % UPLCMS (210 нм); час утримування 2,07 хв.; (M+1) 317.

Приклад 18

Хінуклідин-3-іл-2-о-толілпропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 2-о-толілпропан-2-аміну (230 мг, 1,52 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-о-толілпропан-2-ілкарбамат (200 мг, 44 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) (ротамери) δ 7,33 (шир. с, 1H), 7,15-7,10 (м, 3H), 5,35-5,20 (м, 1H), 4,60 (шир. с, 1H), 3,20-2,60 (м, 5H), 2,5 (с, 3H), 2,15 (шир. с, 1H), 1,80-1,30 (м, 10H). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) (ротамери) δ 154,2, 144,5, 140,2, 133,0, 127,1, 126,2, 126,1, 72,2, 71, 56,0, 46,6, 46,7, 31,0, 29,0, 26,0, 24,7, 22,3, 19,7. Чистота: >95 % UPLCMS (210 нм); (M+1) 303.

Приклад 19

Хінуклідин-3-іл-2-(2-метоксифеніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з 2-(2-метоксифеніл)-пропан-2-аміну (150 мг, 0,908 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-2-(2-метоксифеніл)-пропан-2-ілкарбамат (60 мг, 21 %) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) (ротамери) δ 7,3 (м, 1H), 7,2 (м, 1H), 6,9 (м, 2H), 5,4 (шир. с, 1H), 4,6 (м, 1H), 3,8 (с, 1H), 3,1 (м, 1H), 2,4-2,8 (м, 5H), 1,9 (с, 1H), 1,3-1,7 (м, 10H). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) (ротамери) δ 157, 155, 140, 134, 129, 127, 121, 111, 70, 56, 55, 48, 47, 29, 26, 25, 20. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); (M+1) 319.

Препаративна процедура L

Приклад 20

1-(3-Ціанохінуклідин-3-іл)-3-(2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-іл)-сечовина

3-Аміно-3-ціанохінуклідин отримували, як описано в літературі (Fernandez, Gonzalez, G.; Martinez, M.; Galvez, E. Anales de la Real Academia de Farmacia 1988, 54, 502).

До розчину 3-аміно-3-ціанохінуклідину (100 мг, 0,661 ммоль) в CH₂Cl₂ (5 мл) додавали по краплях 3-ізопреніл-2,2-диметилбензилізоціанат (0,13 мл, 0,66 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин, концентрували і піддавали флеш-хроматографії на силікагелі (19:1 CH₂Cl₂/7 М NH₃(CH₃OH)). Продукт, вказаний в заголовку, був отриманий у вигляді білої твердої речовини (155 мг, 67 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,52 (с,

1H), 7,35-7,25 (м, 3H), 5,34 (с, 1H), 5,05 (с, 1H), 2,60-3,41 (м, 6H), 2,25-2,32 (м, 1H), 2,13 (с, 3H), 1,42-2,10 (м, 4H), 1,64 (с, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD) δ 157,0, 147,9, 144,0, 141,4, 128,1, 124,0, 123,4, 121,9, 121,7, 111,5, 61,0, 55,1, 50,4, 30,9, 23,3, 22,5, 21,0 19,0 м. ч. Чистота: >99,9 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,82 хв.; (M+1) 353.

5 Препаративна процедура М

Приклад 21

1-[(3S)-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил]-3-{2-[3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-сечовина

До суспензії дигідрохлориду (S)-(-)-3-амінохінуклідину (120 мг, 0,603 ммоль) і триетиламіну (168 мкл, 1,21 ммоль) в THF (2 мл) при кімнатній температурі додавали 3-ізопропеніл-2,2-диметилбензилізоціанат (121 мг, 0,601 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 18 годин і потім промивали насиченим водним розчином NaHCO₃. Органічну фазу сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи сполуку, вказану в заголовку, (29 мг, 47 %) у вигляді світло-сірої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,51 (дт, J=2,5, 1,2 Гц, 1H), 7,41-7,14 (м, 3H), 5,32 (дд, J=1,6, 0,8 Гц, 1H), 5,06 (с, 1H), 3,74-3,60 (м, 1H), 3,31-3,29 (м, 2H), 3,19 (ддд, J=13,7, 9,5, 1,6 Гц, 1H), 2,88-2,50 (м, 4H), 2,37 (ддд, J=14,0, 4,9, 2,2 Гц, 1H), 2,14 (ддд, J=2,3, 1,8, 1,0 Гц, 3H), 1,81-1,63 (м, 4H), 1,62 (д, J=6,2 Гц, 6H), 1,55-1,38 (м, 1H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CD₃OD) δ 158,4, 148,4, 144,0, 141,3, 128,0, 124,1, 123,3, 121,9, 111,4, 55,7, 54,7, 46,7, 46,4, 46,0, 29,6, 29,4, 28,4, 26,1, 25,1, 21,0, 19,4 м. ч. Чистота: >96 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,81 хв.; (M+1) 329,5.

20 Препаративна процедура N

Приклад 22

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-{2-[3-(пропан-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-сечовина

До розчину 3-амінохінуклідину (150 мг, 1,19 ммоль) в THF (5 мл) додавали 3-ізопропеніл-2,2-диметилбензилізоціанат. Розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хв., потім концентрували силікагелі і очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи світло-сіру тверду речовину (299 мг, 77 %).

Застосовуючи загальну процедуру F, з вищезгаданої ізопренілсечовини (150 мг, 1,19 ммоль) і гідроксиду паладію (30 мг, 20 % мас. на вугіллі) отримували 1-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-{2-[3-(пропан-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-сечовину (116 мг, 77 %) у вигляді світло-сірої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,38-7,28 (м, 3H), 7,16 (дт, J=6,9, 1,6 Гц, 1H), 4,93 (с, 1H), 4,26 (д, J=7,5 Гц, 1H), 3,70-3,58 (м, 1H), 3,11 (ддд, J=14,1, 9,4, 2,3 Гц, 1H), 2,90 (гепт, J=6,9 Гц, 1H), 2,71-2,52 (м, 4H), 2,31-2,19 (м, 1H), 1,98 (дд, J=14,2, 2,9 Гц, 1H), 1,61 (д, J=2,0 Гц, 6H), 1,52-1,43 (м, 2H), 1,23 (д, J=6,9 Гц, 6H), 1,19-1,09 (м, 1H), 0,92-0,79 (м, 1H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 157,6, 150,1, 146,1, 129,2, 125,8, 124,1, 123,3, 57,1, 54,9, 47,4, 47,0, 46,6, 34,5, 30,7, 30,5, 26,1, 26,0, 24,3, 24,2, 20,3 м. ч. Чистота: 94 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,87 хв.; (M+1) 329,3.

Приклад 23

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[1-(нафталін-1-іл)етил]-сечовина

40 Дигідрохлорид 3-амінохінуклідину (150 мг, 0,753 ммоль) перемішували з THF (3 мл) і триетиламіном (152 мг, 1,50 ммоль), після чого додавали 1-(1-нафтил)-етилізоціанат (149 мг, 0,752 ммоль). Суміш перемішували 48 годин при кімнатній температурі. Реакційний розчин концентрували і очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (46 мг, 19%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,20-8,05 (м, 1H), 7,85 (дд, J=7,9, 1,5 Гц, 1H), 7,75 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,59-7,34 (м, 4H), 5,55 (гепт, 1H), 5,35-5,19 (м, 1H), 4,84 (дд, 1H), 3,70-3,53 (м, 1H), 3,09 (ддд, 1H), 2,74-2,28 (м, 4H), 2,17 (ддд, J=1,8, 4,5, 14,1 Гц, 1H), 1,75-1,62 (м, 1H), 1,55 (дд, J=1,8, 6,8 Гц, 3H), 1,52-1,06 (м, 4H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 157,7, 140,0, 134,1, 130,9, 129,2, 128,3, 126,8, 126,7, 126,7, 126,0, 125,6, 123,2, 123,1, 122,8, 122,7, 56,9, 56,7, 47,4, 47,3, 46,7, 46,4, 26,1, 25,9, 22,7, 22,6, 20,1, 20,0 м. ч. Чистота: 97 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,68 хв.; (M+1) 324,2

Приклад 24

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-сечовина

55 Застосовуючи загальну процедуру C, з хінуклідин-3-аміну (100 мг, 0,792 ммоль), CDI (128 мг, 0,789 ммоль) і 2-(3-бромфеніл)-пропан-2-аміну (170 мг, 0,791 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (166 мг, 75 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,50 (с, 1H), 7,30 (т, J=7,2 Гц, 2H), 7,15 (т, J=7,9 Гц, 1H), 5,54 (д, J=22,7 Гц, 1H), 5,16 (д, J=29,7 Гц, 1H), 3,60 (с, 1H), 3,14 (ддд, J=13,3, 9,4, 1,6 Гц, 1H), 2,61 (д, J=52,6 Гц, 4H), 2,18 (дд, J=14,1, 2,8 Гц, 1H), 1,66 (д, J=3,0 Гц, 2H), 1,51 (д, J=7,6 Гц, 6H), 1,28 (с, 3H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц,

CDCl_3) δ 157,1, 150,4, 130,3, 130,0, 128,6, 124,0, 123,0, 57,0, 54,6, 47,6, 47,2, 46,8, 30,5, 30,3, 26,3, 26,2, 20,2 м. ч. Чистота: 100% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,66 хв.; (M+1) 367,8.

Приклад 25

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[2-(біфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-сечовина

- 5 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-сечовини (111 мг, 0,301 ммоль), фенілборонової кислоти (78,8 мг, 0,606 ммоль) і тетракіс-(трифенілфосфін)-паладію(0) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (21 мг, 11 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,74 (с, 1H), 7,52-7,40 (м, 8H), 4,89 (с, 1H), 4,28 (д, $J=7,3$ Гц, 1H), 3,75-3,59 (м, 1H), 3,15 (ддд, $J=1,9, 9,3, 13,9$ Гц, 1H), 2,46 (м, 4H), 2,05 (дд, $J=3,5, 14,0$ Гц, 1H), 1,68 (д, $J=4,7$ Гц, 6H), 1,66-0,76 (м, 5H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 157,4, 146,9, 142,5, 141,1, 129,7, 129,1, 127,8, 127,4, 126,7, 124,8, 124,7, 57,1, 55,1, 30,7, 30,1, 26,1, 26,0, 20,2 м. ч. Чистота: 100% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,78 хв.; (M+1) 364,0.

Приклад 26

- 15 1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[3-(пропан-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат
Застосовуючи загальну процедуру F, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамату (48,8 мг, 0,146 ммоль) і гідроксиду паладію (30 мг, 20% мас. на вугіллі) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (16 мг, 33 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,24 (д, $J=5,1\text{Hz}$, 3H), 7,10 (д, 1H), 5,12 (с, 1H), 4,63 (с, 1H), 3,54-2,96 (м, 1H), 2,89 (с, 1H), 2,68 (с, 5H), 2,17-1,75 (м, 2H), 1,67 (с, 6H), 1,62-1,30 (м, 2H), 1,24 (д, $J=6,9$ Гц, 6H), 1,15-0,85 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 149,1, 128,5, 124,9, 123,1, 122,5, 55,8, 55,6, 46,6, 34,5, 25,6, 24,6, 24,3, 19,7 м. ч. Чистота: 94% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,89 хв.; (M+1) 331,1.

Приклад 27

- 25 1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-карбамат
Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(3-бромфеніл)-пропан-2-аміну (2,00 г, 7,89 ммоль) і хінуклідін-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (2,23 г, 76 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54 (с, 1H), 7,41-7,30 (м, 2H), 7,19 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 5,11 (с, 1H), 4,68-4,54 (м, 1H), 3,51-2,11 (м, 6H), 2,04-1,68 (м, 2H), 1,63 (д, $J=10,2$ Гц, 6H), 1,51-0,67 (м, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 156,0, 154,7, 150,6, 149,7, 130,2, 130,0, 128,4, 123,7, 72,5, 71,6, 71,5, 55,8, 55,1, 47,6, 46,7, 31,2, 29,9, 29,8, 29,5, 25,6, 24,8, 19,7 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,69 хв.; (M+1) 368,8.

Приклад 28

- 35 1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-циклопропілфеніл)-пропан-2-іл]-карбамат
Застосовуючи загальну процедуру Е, з 11-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (44,3 мг, 0,121 ммоль), циклопропілборонової кислоти (14 мг, 0,16 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (21 мг, 11 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54 (с, 1H), 7,41-7,30 (м, 2H), 7,19 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 5,11 (с, 1H), 4,68-4,54 (м, 1H), 3,51-2,11 (м, 6H), 2,04-1,68 (м, 2H), 1,63 (д, $J=10,2$ Гц, 6H), 1,36 (д, $J=9,5$ Гц, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 147,2, 144,2, 128,6, 128,4, 125,0, 123,7, 122,8, 122,1, 110,0, 72,2, 71,4, 55,9, 55,4, 47,7, 47,3, 46,7, 33,1, 31,6, 30,0, 29,6, 25,6, 24,8, 19,8, 19,3, 15,8, 9,5 м. ч. Чистота: 91 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,75 хв.; (M+1) 329,0.

Приклад 29

- 45 1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(біфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-карбамат
Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (600 мг, 1,63 ммоль), фенілборонової кислоти (398 мг, 3,27 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (379 мг, 64 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,61 (с, 1H), 7,56 (д, $J=7,4$ Гц, 2H), 7,50-7,38 (м, 4H), 7,34 (м, 2H), 5,16 (с, 1H), 4,63 (с, 1H), 3,39-2,09 (м, 6H), 1,72 (с, 6H), 2,02-0,73 (м, 5H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,8, 147,8, 141,6, 129,0, 129,0, 128,6, 127,5, 125,8, 125,0, 124,0, 71,6, 71,3, 55,9, 55,5, 47,6, 46,8, 31,5, 30,2, 30,0, 29,5, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,84 хв.; (M+1) 365,0. Анал. розрахунок для $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 0,29(\text{CHCl}_3)$: С, 70,02; Н, 7,14; N, 7,01. Знайдено: С, 70,02; Н, 7,37; N, 6,84.

Приклад 30

- 55 1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[3-(2-метилпропіл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат
Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (75 мг, 0,20 ммоль), 2-метилпропілборонової кислоти (28,1 мг, 0,276 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (50 мг, 71 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,21 (д, $J=4,9$ Гц, 2H), 7,16 (с, 1H), 7,00 (с, 1H), 5,17 (с, 1H), 4,60 (с, 1H), 3,35-2,10 (м, 6H), 2,45 (д, $J=7,1$ Гц, 2H), 1,82 (дт, $J=6,8, 13,5$ Гц, 1H), 2,03-0,94

(м, 5Н), 1,65 (с, 6Н), 0,89 (д, J=6,6 Гц, 6Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 172,6, 172,1, 170,8, 170,2, 160,1, 160,0, 157,8, 157,7, 140,4, 139,8, 130,5, 130,4, 130,0, 129,8, 129,5, 129,3, 127,9, 127,7, 120,8, 120,7, 120,3, 113,9, 113,6, 113,2, 113,0, 110,5, 110,4, 66,6, 66,5, 56,8, 56,3, 55,4, 55,4, 54,0, 53,7, 51,1, 46,6, 43,8, 43,7, 42,0, 38,4, 37,8, 37,7, 33,8, 33,2, 27,4, 27,0, 25,7, 25,5, 20,9, 20,9 м. ч. Чистота: 90 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,89 хв.; (M+1) 345.

Приклад 31

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-аміну (100 мг, 0,372 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (90,3 мг, 98%). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,45 (дд, J=2,3, 7,3 Гц, 1Н), 7,31 (ддд, J=2,5, 4,2, 8,6 Гц, 1Н), 6,88 (дд, J=8,6, 11,9 Гц, 1Н), 5,38 (с, 1Н), 4,82-4,33 (м, 1Н), 3,28-2,28 (м, 6Н), 1,68 (д, J=9,0 Гц, 6Н), 1,98-1,27 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 161,1, 158,6, 131,7, 131,6, 131,0, 131,0, 118,6, 118,3, 116,8, 55,8, 54,0, 47,6, 46,7, 28,5, 25,6, 24,8, 19,7 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,81 хв.; (M+1) 386,7. Анал. розрахунок для C₁₇H₂₂BrFN₂O₂·0,37(CHCl₃): С, 52,20; Н, 5,66; N, 7,14. Знайдено: С, 52,21; Н, 5,57; N, 7,13.

Приклад 32

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(4'-фторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бромфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (600 мг, 1,63 ммоль), 4-фторфенілборонової кислоти (457 мг, 3,27 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (373 мг, 60%). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,56 (с, 1Н), 7,52 (дд, J=5,4, 8,4 Гц, 2Н), 7,42-7,38 (м, 3Н), 7,12 (м, 2Н), 5,18 (с, 1Н), 4,62 (с, 1Н), 2,66 (м, 6Н), 1,72 (с, 6Н), 2,01-0,83 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 125,0, 124,0, 123,8, 116,0, 116,0, 71,3, 55,9, 55,5, 47,6, 46,7, 29,6, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 98,0 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,95 хв.; (M+1) 382,9. Анал. розрахунок для C₂₃H₂₇FN₂O₂·0,37(CHCl₃): С, 65,86; Н, 6,47; N, 6,57. Знайдено: С, 65,85; Н, 6,69; N, 6,49.

Приклад 33

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(4-фторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (990 мг, 2,57 ммоль), фенілборонової кислоти (209 мг, 1,71 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (257 мг, 26 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,58-7,49 (м, 3Н), 7,44-7,38 (м, 3Н), 7,35-7,29 (м, 1Н), 7,08 (дд, J=8,4, 12,1 Гц, 1Н), 5,30 (с, 1Н), 4,75-4,42 (м, 1Н), 2,89 (д, J=10,2 Гц, 6Н), 1,81-1,66 (м, 6Н), 2,04-1,18 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 161,7, 159,3, 140,7, 137,3, 137,3, 131,7, 131,7, 131,0, 129,0, 127,5, 127,3, 126,7, 117,1, 116,9, 71,4, 55,8, 54,3, 47,6, 46,7, 28,6, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 92,0 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,95 хв.; (M+1) 382,9. Анал. розрахунок для C₂₃H₂₇FN₂O₂·0,4(CHCl₃): С, 65,39; Н, 6,43; N, 6,52. Знайдено: С, 65,39; Н, 6,51; N, 6,42.

Приклад 34

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[2-фтор-5-(2-метилпропіл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (120 мг, 0,312 ммоль), 2-метилпропілборонової кислоти (79,4 мг, 0,779 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (37 мг, 33 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,08 (дд, J=2,0, 8,2 Гц, 1Н), 6,95 (д, J=4,9 Гц, 1Н), 6,93-6,85 (м, 1Н), 5,23 (с, 1Н), 4,72-4,52 (м, 1Н), 3,20-2,47 (м, 6Н), 2,41 (д, J=7,1 Гц, 2Н), 1,89-1,76 (м, 1Н), 2,02-1,26 (м, 5Н), 1,70 (д, J=7,6 Гц, 6Н), 0,88 (д, J=6,6 Гц, 6Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 160,4, 158,0, 137,1, 137,1, 129,2, 129,1, 128,1, 116,2, 116,0, 71,2, 55,8, 54,2, 47,6, 46,7, 45,1, 30,5, 29,9, 28,6, 27,0, 25,6, 24,8, 22,5, 19,8, 19,5 м. ч. Чистота: 95,0% UPLCMS (210 нм); час утримування 1,02 хв.; (M+1) 363.

Приклад 35

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(5-циклопропіл-2-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (750 мг, 0,649 ммоль), циклопропілборонової кислоти (139 мг, 1,62 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (727 мг, 86 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,08 (д, J=6,4 Гц, 1Н), 6,97-6,78 (м, 2Н), 5,19 (с, 1Н), 4,65-4,57 (м, 1Н), 2,66 (с, 6Н), 1,85 (тт, J=5,1, 8,4 Гц, 1Н), 2,00-1,17 (м, 5Н), 1,71 (д, J=8,7 Гц, 6Н), 0,92 (ддд, J=4,6, 6,3, 8,4 Гц, 2Н), 0,62 (дт, J=4,7, 6,4 Гц, 2Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 160,2, 157,8, 139,2, 139,2, 125,6, 125,5, 125,4, 116,5, 116,3, 71,3, 55,8, 54,2, 47,6, 46,7, 29,9, 29,6, 28,6, 25,6, 24,8, 19,6, 15,2, 9,1 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час

утримування 0,87 хв.; (M+1) 347,2. Анал. розрахунок для $C_{20}H_{27}FN_2O_2 \cdot 0,07(CHCl_3)$: C, 68,00; H, 7,70; N, 7,90. Знайдено: C, 67,99; H, 7,86; N, 7,81.

Приклад 36

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамат

- 5 Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-аміну (1,00 г, 3,72 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (434 мг, 30 %). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,57 (с, 1H), 7,38-7,25 (м, 1H), 7,06 (т, J=8,5 Гц, 1H), 5,62 (с, 1H), 4,86-4,32 (м, 1H), 3,33-2,12 (м, 6H), 1,73 (т, J=7,2 Гц, 5H), 1,61 (д, J=9,6 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 159,1, 156,7, 154,6, 130,4, 125,8, 125,7, 116,4, 116,2, 109,1, 108,9, 71,3, 55,7, 54,7, 47,4, 46,5, 29,9, 29,6, 25,5, 24,6, 22,9, 19,6 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,79 хв.; (M+1) 387,8. Анал. розрахунок для $C_{17}H_{22}BrFN_2O_2 \cdot 0,27(CHCl_3)$: C, 49,68; H, 5,38; N, 6,71. Знайдено: C, 49,67; H, 5,39; N, 6,74.

Приклад 37

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(6-фторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-карбамат

- 15 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (750 мг, 1,95 ммоль), фенілборонової кислоти (418 мг, 4,87 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (195 мг, 29%). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,49 (с, 2H), 7,46-7,38 (м, 3H), 7,35 (дд, J=4,3, 11,7 Гц, 2H), 7,08 (дд, J=8,6, 10,1 Гц, 1H), 5,10 (с, 1H), 4,60 (с, 1H), 3,33-2,10 (м, 6H), 1,67 (д, J=7,9 Гц, 6H), 1,67 (м, 5H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 159,9, 157,4, 136,2, 129,3, 129,0, 128,7, 127,9, 127,6, 125,7, 125,6, 71,0, 66,1, 55,7, 55,1, 47,5, 46,6, 29,9, 29,6, 25,5, 24,5, 19,5, 15,5 м. ч. Чистота: 98 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,95 хв.; (M+1) 382,9. Анал. розрахунок для $C_{23}H_{27}FN_2O_2 \cdot 0,29(CHCl_3)$: C, 67,08; H, 6,60; N, 6,72. Знайдено: C, 67,09; H, 6,95; N, 6,37.

Приклад 38

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-фтор-3-(2-метилпропіл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

- 25 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (125 мг, 0,324 ммоль), 2-метилпропілборонової кислоти (66 мг, 0,65 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (27 мг, 23 %). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,23-7,11 (м, 2H), 7,04-6,82 (м, 1H), 5,11 (с, 1H), 4,59 (с, 1H), 3,32-2,12 (м, 6H), 2,48 (д, J=7,2 Гц, 2H), 1,86 (д, J=6,7, Гц, 1H), 2,05-0,96 (м, 5H), 1,62 (д, J=5,8 Гц, 6H), 0,90 (д, J=6,6 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 161,4, 159,0, 154,7, 142,5, 128,3, 124,0, 115,1, 114,9, 71,2, 66,1, 55,8, 55,0, 47,6, 46,7, 38,7, 29,9, 29,6, 25,6, 24,8, 22,6, 19,7 м. ч. Чистота: 85 % UPLCMS (210 нм); час утримування 1,0 хв.; (M+1) 362,9.

Приклад 39

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(4',6'-дифторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-карбамат

- 35 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (125 мг, 0,324 ммоль), 4-фторборонової кислоти (64 мг, 0,46 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (76 мг, 56%). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,48 (т, 2H), 7,44-7,29 (м, 2H), 7,21-7,00 (м, 3H), 5,27 (с, 1H), 4,68-4,55 (м, 1H), 3,29-2,10 (м, 6H), 1,67 (д, J=9,4 Гц, 6H), 2,01-0,69 (м, 5H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 163,9, 161,4, 159,8, 157,3, 154,8, 143,5, 132,2, 130,9, 127,9, 127,8, 127,4, 125,9, 125,8, 116,2, 116,0, 115,7, 115,5, 71,4, 66,1, 55,9, 47,6, 46,7, 30,0, 39,7, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 98 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,96 хв.; (M+1) 400,9.

Приклад 40

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-фтор-3-(піримідин-5-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

- 45 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (150 мг, 0,389 ммоль), піримідин-5-боронової кислоти (75,9 мг, 0,613 ммоль) і тріс-(добензиліденацетон)-дипаладію(0) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (49 мг, 31 %). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 9,22 (с, 1H), 8,92 (с, 2H), 7,55-7,41 (м, 2H), 7,19 (дд, J=8,7, 9,9 Гц, 1H), 5,37 (с, 1H), 4,72-4,49 (м, 1H), 3,34-2,04 (м, 6H), 2,04-0,98 (м, 5H), 1,66 (т, J=10,9 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 159,9, 157,9, 157,4, 156,6, 154,7, 130,2, 127,85, 127,77, 126,9, 122,0, 121,8, 116,7, 116,5, 116,2, 71,6, 55,9, 54,9, 47,6, 46,7, 30,3, 29,6, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 93 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,63 хв.; (M+1) 384,9

Приклад 41

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-фтор-3-(піридин-3-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

- 55 Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (110 мг, 0,286 ммоль), піридин-3-боронової кислоти (53 мг, 0,43 ммоль) і тріс-(добензиліденацетон)-дипаладію(0) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (42 мг, 39 %). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,78 (с, 1H), 8,62 (д, J=3,5 Гц,

1Н), 7,86 (с, 1Н), 7,46 (д, J=7,2 Гц, 2Н), 7,38 (дд, J=4,9, 7,9 Гц, 1Н), 7,15 (дд, J=8,7, 9,9 Гц, 1Н), 5,32 (с, 1Н), 4,69-4,57 (м, 1Н), 2,68 (с, 6Н), 1,70 (д, J=11,3 Гц, 6Н), 2,08-0,94 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 160,0, 157,5, 149,9, 149,0, 136,6, 132,1, 127,3, 126,8, 126,7, 125,5, 125,3, 123,5, 116,4, 116,2, 71,5, 55,9, 55,0, 47,6, 46,7, 30,1, 29,66, 25,6, 24,8, 19,7 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,54 хв.; (M+1) 367,8.

Приклад 42

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-фтор-3-(фуран-3-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (110 мг, 0,296 ммоль), фуран-3-боронової кислоти (47,9 мг, 0,428 ммоль) і тріс-(добензиліденацетон)-дипаладію(0) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (47 мг, 44 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,88 (ддд, J=0,9, 1,5, 2,5 Гц, 1Н), 7,53 (дд, J=2,5, 7,1 Гц, 1Н), 7,50 (т, J=1,7 Гц, 1Н), 7,31-7,23 (м, 1Н), 7,08 (дд, J=8,6, 10,6 Гц, 1Н), 6,76 (дт, J=0,8, 1,7 Гц, 1Н), 5,22 (с, 1Н), 4,62 (с, 1Н), 3,40-2,11 (м, 6Н), 2,02-0,87 (м, 5Н), 1,59 (дд, J=11,6, 70,3 Гц, 6Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 160,0, 157,5, 150,2, 143,9, 127,44, 127,36, 127,0, 126,1, 123,8, 116,6, 116,4, 71,5, 55,9, 55,0, 47,6, 46,7, 30,1, 29,9, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 96 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,85 хв.; (M+1) 372,9.

Приклад 43

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[4-фтор-3-(піридин-4-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-карбамату (130 мг, 0,291 ммоль), піридин-4-боронової кислоти (54 мг, 0,43 ммоль) і тріс-(добензиліденацетон)-дипаладію(0) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (46 мг, 41 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,68 (дд, J=1,6, 4,5 Гц, 2Н), 7,61-7,39 (м, 4Н), 7,15 (дд, J=8,6, 10,2 Гц, 1Н), 5,31 (с, 1Н), 4,69-4,57 (м, 1Н), 3,40-2,07 (м, 6Н), 1,69 (д, J=10,8 Гц, 6Н), 2,06-0,74 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 160,0, 157,6, 143,3, 141,6, 141,5, 126,7, 126,6, 124,9, 124,8, 120,1, 119,9, 116,1, 115,9, 115,4, 115,1, 109,2, 71,4, 55,9, 55,0, 47,6, 46,7, 29,9, 25,6, 24,8, 19,8 м. ч. Чистота: 97 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,82 хв.; (M+1) 384,6.

Приклад 44

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-(2-фенілпропан-2-іл)-сечовина

Застосовуючи загальну процедуру С, з хінуклідин-3-аміну (102 мг, 0,6 ммоль), CDI (131 мг, 0,789 ммоль) і куміламіну (95 мг, 0,70 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (21 мг, 10%). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,61-7,47 (м, 2Н), 7,44-7,37 (м, 2Н), 7,34-7,28 (м, 1Н), 4,86 (с, 1Н), 4,20 (д, J=7,3 Гц, 1Н), 3,71-3,60 (м, 1Н), 3,14 (ддд, J=2,3, 9,4, 14,2 Гц, 1Н), 2,79-1,89 (м, 6Н), 1,64 (д, J=3,3 Гц, 6Н), 1,58-1,10 (м, 5Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 157,4, 146,2, 129,3, 127,8, 125,8, 57,1, 54,9, 47,7, 47,1, 46,7, 30,6, 30,5, 26,0, 20,3 м. ч. Чистота: 79 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,61 хв.; (M+1) 288,2.

Препаративна процедура О

Приклад 45

3-Ціано-1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-{2-[3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

До розчину 3-гідроксихінуклідин-3-карбонітрилу (38 мг, 0,25 ммоль) в суміші ацетонітрилу з діоксаном (3 мл) при кімнатній температурі додавали триетиламін (7,0 мкл, 0,05 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 15 хв. і по краплях додавали 1-(2-ізоціанатопропан-2-іл)-3-(проп-1-ен-2-іл)-бензол (49,0 мкл, 0,248 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 18 годин при 65 °С і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи відповідний карбамат у вигляді прозорого масла (57 мг, 65 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,42-7,20 (с, 5Н), 6,61 (с, 1Н), 5,11 (с, 1Н), 3,29 (д, J=12,0 Гц, 1Н), 3,09 (д, J=12,0 Гц, 1Н), 2,93 (д, J=4,0 Гц, 2Н), 2,79-2,68 (м, 2Н), 2,13 (с, 6Н), 2,05-2,00 (м, 2Н), 1,91 (с, 3Н), 1,87 (с, 2Н), 1,50-1,37 (м, 2Н) м. ч. ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 135,4, 128,7, 125,2, 124,5, 124,0, 122,0, 112,9, 61,2, 47,0, 46,2, 32,4, 31,8, 29,9, 29,4, 29,2, 26,6, 25,7, 23,7, 22,8, 22,2, 19,2 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,81 хв.; (M+1) 354.

Препаративна процедура Р

Приклад 46

N-(2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

До розчину 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану (350 мг, 2,77 ммоль) і 1-(2-ізоціанатопропан-2-іл)-3-(проп-1-ен-2-іл)-бензолу (1,09 мл, 5,55 ммоль) в хлороформі (2 мл) додавали 3-4 гранули молекулярних сит. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і потім концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO₂-картридж, CHCl₃ і 2 н NH₃ в MeOH), отримуючи відповідну сечовину у вигляді світло-сірої твердої речовини (650 мг, 36 %). ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,48 (с, 1Н), 7,31-7,26 (м, 3Н), 5,34

(с, 1H), 5,07 (с, 1H), 4,73 (шир. с, 1H), 4,03 (шир. с, 1H), 3,64 (м, 2H), 3,14-3,03 (м, 6H), 2,15 (с, 3H) 2,06 (м, 2H), 1,72 (м, 8H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 155,7, 148,3, 143,8, 141,3, 128,5, 124,1, 123,9, 122,0, 112,5, 57,8, 55,8, 48,1, 46,4 (2 \times), 41,2, 30,2 (2 \times), 27,3 (2 \times), 22,1 м. ч. Чистота: >98 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,71 хв.; (M+1) 328.

5 Приклад 47

Біфеніл-2-іл-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксилат

Біфеніл-2-ілкарбонохлоридат (83,0 мг, 0,358 ммоль) обробляли 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонаном (113 мг, 0,896 ммоль), застосовуючи ту ж процедуру, що і в Прикладі 46, отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (17 мг, 15 %). Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,75 хв.; (M+1) 323.

10 Приклад 48

N-{2-[3-(пропан-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру F, з N-(2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксаміду (100 мг, 0,305 ммоль) і паладію (20 мг, 20 % мас. на вугіллі) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (60 мг, 57 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,28-7,21 (м, 3H), 7,11 (д, J=8,0 Гц, 1H), 4,71 (с, 1H), 4,02 (с, 1H), 3,66 (т, J=8,0 Гц, 2H) 3,15 (м, 7H), 2,06 (шир. с, 2H), 1,77 (с, 7H) 1,26 (д, J=4,0 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 155,8, 148,9, 148,5, 128,5, 1, 124,7, 123,1, 122,4, 57,8, 56,0, 48,1, 46,4, 41,2, 34,5, 32,2, 30,4, 30,0, 29,9, 27,3, 24,3, 22,9 м. ч. Чистота: >91 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,74 хв.; (M+1) 330.

Препаративна процедура Q

20 Приклад 49

(+/-)-(3S, 4S)-1-Азабіцикло[2.2.1]гептан-3-іл-2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-ілкарбамат

До розчину (+/-)-(3S, 4S)-1-Азабіцикло[2.2.1]гептан-3-олу (294 мг, 2,6 ммоль) в THF (5 мл) при кімнатній температурі додавав NaH [60 %, масло] (107 мг, 2,67 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 15 хв. і по краплях додавали 1-(2-ізоціанатопропан-2-іл)-3-(проп-1-ен-2-іл)-бензол (344 мкл, 1,73 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 30 хв. і гасили насиченим сольовим розчином. Розчин екстрагували EtOAc і органічний шар сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Неочищений матеріал очищали за допомогою комбіфлеш-хроматографії (SiO_2 -картридж, CHCl_3 і 2 н NH_3 в MeOH), отримуючи відповідний карбамат у вигляді прозорого масла (140 мг, 26 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26-7,20 (м, 3H), 7,11 (м, 1H), 5,18 (с, 1H), 5,19 (шир. с, 1H), 5,01 (с, 1H), 4,81 (шир. с, 1H), 2,99 (шир. с, 1H), 2,82 (шир. с, 1H), 2,70 (шир. с, 1H), 2,53 (шир. с, 2H), 2,33 (шир. с, 1H), 2,02 (с, 3H), 1,76 (шир. с, 1H) 1,61 (шир. с, 6H), 1,52 (шир. с, 1H), 1,37 (шир. с, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 147,1, 143,7, 141,5, 128,5, 124,1, 122,1, 112,7, 75,6, 60,6, 59,4, 55,4, 54,3, 53,9, 41,5, 29,9, 29,8, 29,4, 22,2, 21,6 м. ч. Чистота: >98 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,83 хв.; (M+1) 315

30 Приклад 50

(+/-)-(3S, 4S)-1-Азабіцикло[2.2.1]гепт-3-ил-2-[3-(пропан-2-іл)-феніл]-пропан-2-іл}-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру F, з (+/-)-(3S, 4S)-1-Азабіцикло[2.2.1]гептан-3-іл-2-(3-(проп-1-ен-2-іл)-феніл)-пропан-2-ілкарбамату (110 мг, 0,350 ммоль) і паладію (20 мг, 20% мас. на вугіллі) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (36 мг, 46%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,25-7,19 (м, 3H), 7,11 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,19 (с, 1H), 4,91 (с, 1H), 3,44 (т, J=4,0 Гц, 2H) 3,19 (шир. с, 1H), 3,02 (шир. с, 1H), 2,89 (м, 2H), 2,69 (шир. с, 1H), 2,39 (шир. с, 1H), 1,91 (шир. с, 1H), 1,66 (шир. с, 7H) 1,26 (д, J=4,0 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 128,5 (2 \times), 124,8, 123,1 (2 \times), 122,4 (2 \times), 77,4, 60,6, 59,4, 55,5, 41,5, 34,5, 29,9, 29,9, 29,5, 24,3 (2 \times), 21,6 м. ч. Чистота: >95% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,88 хв.; (M+1) 317.

45 Приклад 51

N-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру A, з гідрохлориду 2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-аміну (1,00 г, 3,72 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (265 мг, 18 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54-7,52 (м, 1H), 7,31-7,25 (м, 1H), 7,04 (т, J=8,0 Гц, 1H), 4,71 (с, 1H), 3,99 (шир. с, 1H), 3,59 (т, J=8,0 Гц, 2H), 3,13-2,95 (м, 6H), 2,04-1,97 (м, 2H) 1,77-1,67 (м, 2H), 1,65 (с, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 158,9, 156,4, 155,4, 145,9, 130,2, 125,6, 116,2, 57,8, 54,9, 48,3, 46,6, 46,6, 41,6, 30,5, 30,5, 27,6, 27,6 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,73 хв.; (M+1) 384.

55 Приклад 52

N-[2-(6-фторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру E, з N-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксаміду (100 мг, 0,261 ммоль), фенілборонової кислоти (79 мг, 0,65 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-

сірої твердої речовини (66 мг, 66 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54 (м, 2H), 7,44-7,40 (м, 5H), 7,08 (м, 1H), 4,78 (шир. с, 1H), 4,00 (шир. с, 1H), 3,60 (м, 2H), 3,11-2,92 (м, 6H), 2,00 (м, 2H) 1,67 (м, 7H), 1,26 (с, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 159,6, 155,6, 144,6, 136,5, 129,3, 128,6, 128,5, 127,8, 127,5, 125,7, 125,6, 116,1, 115,9, 57,9, 55,3, 48,2, 46,4, 46,4, 41,6, 30,6, 30,5, 29,9, 27,6 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,88 хв.; (M+1) 382.

Приклад 53

N-[2-(4',6-дифторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру Е, з N-[2-(3-бром-4-фторфеніл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксаміду (100 мг, 0,261 ммоль), 4-фторфенілборонової кислоти (91 мг, 0,65 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (64 мг, 62%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,48 (м, 2H), 7,37-7,30 (м, 2H), 7,10-7,03 (м, 3H), 4,77 (с, 1H), 3,99 (шир. с, 1H), 3,58 (м, 2H), 3,10-2,90 (м, 6H), 1,98 (м, 2H) 1,71 (м, 8H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 163,7, 161,3, 159,5, 157,1, 155,6, 144,6, 131,0, 130,9, 127,4, 127,2, 125,7, 116,1, 115,6, 57,9, 55,2, 48,2, 46,4, 46,4, 41,5, 30,6, 30,6, 27,6, 27,6 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,90 хв.; (M+1) 400.

Приклад 54

N-[2-(нафталін-1-іл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(нафталін-1-іл)-пропан-2-аміну (227 мг, 1,23 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (206 мг, 50 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,63-8,60 (м, 1H), 7,90-7,87 (м, 1H), 7,78 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,63 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,47-7,42 (м, 3H), 4,86 (с, 1H), 3,94 (шир. с, 1H), 3,61 (м, 2H), 3,11-2,88 (м, 7H), 2,01-1,91 (м, 7H), 1,68-1,62 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 176,2, 155,5, 142,6, 135,3, 130,6, 129,9, 128,8, 126,3, 125,4, 125,2, 123,9, 57,3, 57,1, 47,7, 45,8, 45,8, 40,7, 29,4, 29,4, 26,9, 26,9 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,72 хв.; (M+1) 338.

Приклад 55

N-(2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-аміну (100 мг, 0,372 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (70 мг, 49 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,48 (м, 1H), 7,28 (м, 1H), 6,86 (м, 1H), 4,85 (с, 1H), 3,98 (шир. с, 1H), 3,56 (м, 2H), 3,14-2,91 (м, 7H), 1,99 (м, 2H) 1,71 (м, 7H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 161,1, 158,6, 155,7, 131,3, 113,1, 118,3, 118,0, 57,8, 54,0, 48,1, 46,4, 46,4, 41,5, 29,1, 29,1, 27,5, 27,5 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,73 хв.; (M+1) 384.

Приклад 56

N-[2-(4-фторбіфеніл-3-іл)-пропан-2-іл]-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру Е, з N-(2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксаміду (100 мг, 0,261 ммоль), фенілборонової кислоти (30 мг, 0,25 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (27 мг, 39 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,56-7,51 (м, 3H), 7,41-7,37 (м, 3H), 7,32-7,30 (м, 1H), 7,03 (м, 1H), 4,90 (с, 1H), 4,00 (шир. с, 1H), 3,59 (м, 2H), 3,11-2,92 (м, 6H), 2,04-1,98 (м, 2H) 1,78 (с, 6H), 1,73-1,67 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 161,8, 159,4, 155,9, 140,9, 137,2, 134,6, 128,9, 127,4, 127,3, 127,2, 127,1, 127,0, 116,9, 57,9, 54,4, 48,1, 46,5, 46,5, 41,4, 29,9, 29,3, 27,5, 27,5 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,90 хв.; (M+1) 400.

Приклад 57

N-(2-(3-ізопропоксифеніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з гідрохлориду 2-(3-ізопропоксифеніл)-пропан-2-аміну (60 мг, 0,31 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (70 мг, 57 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,17 (т, J=8,0 Гц, 1H), 6,92-6,87 (м, 2H), 6,69 (д, J=8,0 Гц, 1H) 4,66 (шир. с, 1H), 4,48 (м, 1H), 3,94 (шир. с, 1H) 3,56 (м, 2H), 3,08-2,90 (м, 5H), 1,96 (м, 2H) 1,69-1,60 (м, 7H), 1,27 (д, J=8,0 Гц, 6H), 1,17 (шир. с, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 158,0, 155,7, 150,3, 129,4, 117,1, 113,4, 113,1, 77,5, 69,8, 55,7, 48,2, 46,4, 46,4, 46,3, 41,5, 30,3, 30,0, 29,9, 27,6, 22,3 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,75 хв.; (M+1) 346.

Приклад 58

N-(біфеніл-3-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з біфеніл-3-аміну (100 мг, 0,592 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (93 мг, 49 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,60 (м, 1H), 7,56-53 (м, 2H), 7,39-

7,21 (м, 6H), 6,67 (шир. с, 1H), 4,85 (с, 1H), 4,16 (шир. с, 1H), 3,66-3,61 (м, 2H), 3,07-2,86 (м, 6H), 1,97 (м, 2H) 1,68 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,7, 142,0, 141,1, 139,9, 129,3, 128,8, 128,8, 127,5, 127,3, 127,3, 122,0, 119,4, 119,2, 57,5, 48,4, 46,3, 46,3, 42,1, 27,5, 27,5 м. ч. Чистота: >96 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,75 хв.; (M+1) 333.

5 Приклад 59

N-{2-[2-фтор-5-(2-метилпропіл)-феніл]-пропан-2-іл}-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру Е, з N-(2-(5-бром-2-фторфеніл)-пропан-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксаміду (100 мг, 0,261 ммоль), ізопропілборонової кислоти (66 мг, 0,65 ммоль) і ацетату паладію (II) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді світло-сірої твердої речовини (27 мг, 39 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,08 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,93-6,81 (м, 2H), 4,85 (с, 1H), 3,96 (шир. с, 1H), 3,65 (кв., J=8,0 Гц, 1H), 3,55 (т, J=8,0 Гц, 2H), 3,09-2,90 (м, 5H), 2,40 (д, J=4,0 Гц, 1H), 2,01-1,92 (м, 2H) 1,81-1,61 (м, 8H), 1,22-1,17 (м, 2H), 0,87 (д, J=8,0 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 160,5, 158,0, 155,9, 137,0, 133,6, 128,8, 116,0, 57,9, 54,3, 48,1, 46,4 (2x), 45,2, 41,4, 30,5, 29,9, 29,2, 29,2, 27,5, 22,6, 22,6 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,94 хв.; (M+1) 362.

Приклад 60

N-(біфеніл-2-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-ізоціанатобіфенілу (50 мг, 0,26 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (55 мг, 65 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,15 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,45-7,31 (м, 6H), 7,16 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,04 (т, J=8,0 Гц, 1H), 6,47 (шир. с, 1H), 3,63 (шир. с, 1H), 3,57 (т, J=8,0 Гц, 2H), 3,00-2,80 (м, 6H), 1,68 (м, 2H) 1,43 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 154,2, 138,9, 136,6, 131,7, 129,7, 129,5, 129,5, 129,3, 129,3, 128,7, 128,1, 122,6, 120,5, 57,6, 48,5, 46,2, 46,2, 41,6, 29,9, 27,3 м. ч. Чистота: >99% UPLCMS (210 нм); час утримування 0,64 хв.; (M+1) 322.

Приклад 61

N-(нафталін-1-іл)-1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонан-4-карбоксамід

Застосовуючи загальну процедуру А, з 1-ізоціанатонафталіну (208 мг, 1,23 ммоль) і 1,4-діазабіцикло[3.2.2]нонану отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (150 мг, 48 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,80-7,72 (м, 2H), 7,64 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,56 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,44-7,35 (м, 3H), 6,65 (шир. с, 1H), 4,18 (шир. с, 1H), 3,64 (т, J=8,0 Гц, 2H), 3,09-2,91 (м, 6H), 2,08-1,93 (м, 2H) 1,74-1,66 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 155,3, 134,4, 134,3, 128,9, 128,2, 126,2, 126,1, 126,0, 125,1, 121,2, 121,0, 57,6, 48,7, 46,4, 46,4, 42,2, 27,6, 27,6 м. ч. Чистота: >99 % UPLCMS (210 нм); час утримування 0,53 хв.; (M+1) 296.

35 Приклад 62

(S)-хінуклідин-3-іл-2-(біфеніл-4-іл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру В, бромбензонітрил (2,00 г, 11,0 ммоль) перетворювали у відповідний 2-(4-бромфеніл)-пропан-2-амін (1,20 г, 51 %), що отримується у вигляді коричневого масла.

40 Застосовуючи загальну процедуру А, з 2-(4-бромфеніл)-пропан-2-аміну (1,0 г, 4,7 ммоль) і (S)-хінуклідин-3-олу отримували (S)-хінуклідин-3-іл-2-(4-бромфеніл)-пропан-2-ілкарбамат (1,0 г, 58 %) у вигляді коричневого масла.

Застосовуючи загальну процедуру Е, з вищезгаданого броміду (200 мг, 0,540 ммоль), фенілборонової кислоти (133 мг, 1,10 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (70 мг, 35 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,60-7,53 (м, 4H), 7,47 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,42 (т, J=7,5 Гц, 2H), 7,33 (т, J=7,5 Гц, 1H), 5,26 (шир. с, 1H), 4,64 (м, 1H), 3,33-3,15 (м, 1H), 3,10-2,45 (м, 5H), 2,40-1,80 (м, 2H), 1,78-1,58 (м, 7H), 1,55-1,33 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 154,5, 146,1, 140,8, 139,5, 128,7, 127,2, 127,1, 127,1, 125,2, 70,9, 55,5, 55,1, 47,4, 46,4, 31,1, 29,5, 25,3, 24,5, 19,5 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,56 хв.; (M+1) 365.

Приклад 63

Хінуклідин-3-іл-2-(4-(піримідин-5-іл)-феніл)-пропан-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-(4-бромфеніл)-пропан-2-ілкарбамату (200 мг, 0,540 ммоль), піримідин-5-ілборонової кислоти (136 мг, 1,12 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (80 мг, 40 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 9,17 (с, 1H), 8,92 (с, 2H), 7,58-7,51 (м, 4H), 5,34 (с, 1H), 4,61 (м, 1H), 3,20-3,10 (м, 1H), 2,92-2,41 (м, 5H), 2,00-1,76 (м, 2H), 1,72-1,53 (м, 7H), 1,52-1,32 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 157,4, 154,8, 154,5, 148,2, 134,0, 132,5, 127,0, 126,0, 71,2, 55,6, 55,0, 47,4, 46,3, 29,7, 29,4, 25,4, 24,5, 19,5 м. ч. Чистота: >96 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,34 хв.; (M+1) 366.

Приклад 64

Хінуклідин-3-іл-1-(біфеніл-4-іл)-циклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру G, бромбензонітрил (3,00 г, 16,5 ммоль) перетворювали у відповідний 1-(4-бромфеніл)-циклопропанамін (1,80 г, 51 %), що отримується у вигляді жовтої твердої речовини.

Застосовуючи загальну процедуру A, з 1-(4-бромфеніл)-циклопропанаміну (1,0 г, 4,7 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамат (1,3 г, 75 %) у вигляді білої напіврідкої речовини.

Застосовуючи загальну процедуру E, з вищезгаданого карбамату (400 мг, 1,12 ммоль), фенілборонової кислоти (267 мг, 2,22 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (100 мг, 25 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,47 (д, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,43 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,33 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,26-7,15 (м, 3H), 5,93 (шир. с, 0,6 H), 5,89 (шир. с, 0,4 H), 4,67 (м, 1H), 3,20-3,06 (м, 1H), 2,88-2,42 (м, 5H), 1,98-1,08 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 155,0, 141,0, 139,7, 138,2, 127,7, 126,1, 126,0, 124,8, 124,1, 70,0, 54,5, 46,3, 45,4, 34,1, 24,3, 23,2, 18,3, 17,0 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,52 хв.; (M+1) 363.

Препаративна процедура R

Приклад 65

Хінуклідин-3-іл-1-(4-(піридин-2-іл)-феніл)-циклопропілкарбамат

До розчину хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату (870 мг, 2,43 ммоль) в 30 мл 1,4-діоксану, додавали біс-(пінаколато)-диборан (1,81 г, 7,22 ммоль), CH_3COOK (2,10 г, 21,4 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (97 мг, 0,12 ммоль). Суміш перемішували при 80 °C протягом 18 годин. Розчинник випарювали і залишок екстрагували EtOAc . Екстракти концентрували і очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (елюючи сумішшю EtOAc /метанол від 20/1 до 10/1 з 1 % TEA), отримуючи хінуклідин-3-іл-1-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-іл)-феніл)-циклопропілкарбамат (260 мг, 33 %) у вигляді коричневої напіврідкої речовини.

Застосовуючи загальну процедуру E, з вищезгаданого боронату (260 мг, 0,632 ммоль), 2-бромпіридину (149 мг, 0,941 ммоль) і $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (32,0 мг, 0,036 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої напіврідкої речовини (70 мг, 31 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 8,58 (д, $J=4,5$ Гц, 1H), 7,82 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 7,66-7,57 (м, 2H), 7,23-7,15 (м, 2H), 7,11 (т, $J=5,0$ Гц, 1H), 6,16 (шир. с, 0,6 H), 5,97 (шир. с, 0,4 H), 4,63 (м, 1H), 3,17-3,02 (м, 1H), 2,90-2,38 (м, 5H), 1,90-1,10 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 156,1, 155,2, 148,6, 143,0, 136,3, 135,7, 125,9, 124,5, 120,9, 119,4, 70,3, 54,6, 46,3, 45,4, 34,1, 24,4, 23,5, 18,5, 17,3 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,18 (M+H) 364.

Приклад 66

Хінуклідин-3-іл-1-(4-(піримідин-5-іл)-феніл)-циклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру E, з вищезгаданого хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату (400 мг, 1,10 ммоль), піримідин-5-ілборонової кислоти (204 мг, 1,64 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (110 мг, 28 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ (с, 1H), (с, 2H), 7,44 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,33-7,25 (м, 2H), 6,02 (шир. с, 0,7 H), 6,02 (шир. с, 0,3 H), 4,65 (м, 1H), 3,20-3,05 (м, 1H), 2,86-2,40 (м, 5H), 1,98-1,12 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 156,3, 155,1, 153,7, 143,3, 132,9, 131,1, 126,0, 125,3, 70,5, 54,7, 46,4, 45,4, 34,1, 24,4, 23,5, 18,5, 17,5 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,29 хв.; (M+1) 365.

Приклад 67

(S)-хінуклідин-3-іл-1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру E, з (S)-хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату, 4-F-фенілборонової кислоти і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (45%). ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,06-7,83 (д, 1H), 7,69-7,66 (м, 2H), 7,59-7,55 (м, 2H), 7,29-7,22 (м, 4H), 4,56-4,54 (м, 1H), 3,13-2,32 (м, 6H), 1,91-1,19 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 163,2, 161,2, 156,4, 143,7, 136,9, 128,9, 128,8, 126,8, 125,6, 116,2, 116,0, 70,7, 55,8, 47,4, 46,4, 34,8, 25,7, 24,6, 19,6, 18,7, 18,6 м. ч. Чистота: >97 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,96 хв.; (M+1) 381,2.

Приклад 68

1-Азабіцикло[3.2.2]нонан-4-іл-1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру E, з 1-азабіцикло[3.2.2]нонан-4-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату, 4-F-фенілборонової кислоти і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (27 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,52-7,48 (м, 4H), 7,33-7,28 (м, 2H), 7,14-7,11 (т, $J=8,5$ Гц, 2H), 5,47-5,33 (д, 1H), 4,93-4,89 (м, 1H),

3,15-2,75 (м, 6H), 2,10-0,88 (м, 11H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 163,4, 161,4, 155,7, 142,1, 138,3, 136,9, 128,5, 128,5, 127,0, 125,9, 125,4, 115,7, 115,5, 78,8, 51,7, 48,3, 44,9, 35,2, 33,7, 30,6, 29,7, 24,8, 22,2, 18,1 м. ч. Чистота: >99 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,56 хв.; (M+1) 395,2.

5 Приклад 69

(S)-хінуклідин-3-іл-1-(4-(5-фторпіридин-2-іл)-феніл)-циклопропілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з (S)-хінуклідин-3-іл-1-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborolan-2-іл)-феніл)-циклопропіл)-карбамату, 2-бром-5-фторпіридину і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (34 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 8,51-8,52 (д, J=3,5 Гц, 1H), 7,87-7,85 (д, J=10,5 Гц, 2H), 7,69-7,67 (м, 1H), 7,47-7,42 (м, 1H), 7,32-7,27 (м, 2H), 5,79-5,66 (д, 1H), 4,73-4,71 (т, J=5,0 Гц, 1H), 3,22-3,19 (м, 1H), 2,87-2,61 (м, 5H), 2,01-1,22 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 160,8, 157,4, 156,1, 153,5, 144,4, 137,8, 136,3, 126,7, 125,7, 124,9, 123,6, 121,1, 71,6, 55,7, 47,4, 46,5, 35,3, 29,7, 25,4, 24,8, 19,4, 18,2 м. ч. Чистота: >99 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,41 хв.; (M+1) 382,2.

Препаративна процедура С

Приклад 70

(S)-1-(1-(4'-фторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл)-3-(3-метилхінуклідин-3-іл)-сечовина

У тригорлій круглодонній колбі, забезпеченій двома вирівнюючими тиск краплинними лійками і гумовою трубкою, з'єднаною з газовим витратоміром, протягом 10 хв. перемішували суспензію 1-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-4-іл)-циклопропанаміну (1,50 г, 7,07 ммоль) в суміші 20 мл води і 1 мл конц. HCl . Додавали толуол (10 мл) і при інтенсивному перемішуванні розчин охолоджували до 0 °C. Протягом 1 години по краплях додавали розчин трифосгену в 20 мл толуолу і 40 мл насиченого водного NaHCO_3 . Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 30 хв. Перемішування припиняли, відділяли верхній толуольний шар, сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи відповідний ізоціанат, який використовували на наступній стадії без подальшого очищення.

До розчину вищезгаданого ізоціанату (134 мг, 0,571 ммоль) в 15 мл толуолу додавали (S)-3-метилхінуклідин-3-амін (80 мг, 0,57 ммоль). Суміш, отриману в результаті цього, нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом ночі, охолоджували до температури навколишнього середовища і концентрували у вакуумі, отримуючи залишок, який очищали за допомогою зворотно-фазової хроматографії на комбіфлеш-картриджі (0-20 % MeCN у воді), отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (73 мг, 33 %). ^1H ЯМР (500 МГц CDCl_3) (7,52-7,48 (м, 4H), 7,27-7,25 (д, J=10,0 Гц, 2H), 7,13-7,09 (м, 2H), 5,39 (с, 1H), 4,78 (с, 1H), 2,95-2,71 (м, 5H), 2,65-2,64 (м, 1H), 1,94-1,93 (м, 1H), 1,69-1,68 (м, 1H), 1,46-1,38 (м, 5H), 1,36-1,33 (м, 4H), 1,26-1,23 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц CDCl_3) (163,5, 161,5, 157,5, 141,5, 138,5, 136,6, 136,6, 128,5, 128,4, 127,2, 124,7, 115,8, 115,6, 63,8, 52,3, 46,6, 46,3, 34,9, 31,0, 25,0, 23,2, 22,5, 20,2, 20,0 м. ч. Чистота: >99 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,51 хв.; (M+H⁺) 394,2.

40 Приклад 71

(S)-1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[1-(2',4'-дифторбіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з (S)-хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату (0,446 г, 1,22 ммоль), 2,4-дифторфенілборонової кислоти (0,386 г, 2,44 ммоль) і $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,015 г, 0,067 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді коричнево-жовтої твердої речовини (0,111 г, 23 %). ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,43 (дд, J=8,4, 1,6 Гц, 2H), 7,40-7,33 (м, 1H), 7,31 (д, J=7,7 Гц, 2H), 6,99-6,81 (м, 2H), 5,54 (д, J=48,0 Гц, 1H), 4,82-4,65 (м, 1H), 3,30-3,07 (м, 1H), 2,98-2,44 (м, 5H), 1,97 (д, J=32,7 Гц, 1H), 1,83 (д, J=10,3 Гц, 1H), 1,64 (с, 1H), 1,52 (с, 1H), 1,39 (с, 1H), 1,31 (д, J=6,8 Гц, 4H) м. ч. ^{13}C ЯМР головного ротамера (CDCl_3) δ 162,2 (дд, J=12,8, 249,1 Гц), 159,8 (дд, J=11,8, 251,0 Гц), 156,9, 156,0, 142,6, 133,1, 131,3 (м), 128,9, 125,6, 124,9, 111,5 (дд, J=3,9, 21,2 Гц) 104,4 (дд, J=25,2, 29,4 Гц), 72,1, 71,6, 55,7, 47,4, 46,5, 35,7, 35,3, 25,5, 24,6, 24,4, 19,5, 18,1 м. ч. Чистота: LCMS >99,3 % (214 нм і 254 нм); час утримування 0,90 хв.; (M+1) 399,0

Приклад 72

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил-[1-(4'-метоксибіфеніл-4-іл)-циклопропіл]-карбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-1-(4-бромфеніл)-циклопропілкарбамату (0,485 г, 1,33 ммоль), 4-метоксифенілборонової кислоти (0,404 г, 2,66 ммоль) і $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,016 г, 0,071 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді сірої твердої речовини (0,337 мг, 65%). ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,48 (дд, J=8,6, 5,5 Гц, 4H), 7,29 (д, J=7,6 Гц, 2H), 6,96 (д, J=8,8 Гц, 2H), 5,58 (д, J=48,7 Гц, 1H), 4,83-4,63 (м, 1H), 3,84 (с, 3H), 3,20 (дд, J=24,0, 15,5 Гц, 1H), 2,97-2,42 (м, 5H), 1,97 (д, J=30,9 Гц, 1H), 1,81 (с, 1H), 1,75-1,33 (м, 3H),

1,28 (д, J=6,8 Гц, 4H) м. ч. ^{13}C ЯМР основної ротомер (CDCl_3) δ 159,1, 156,0, 141,4, 139,0, 133,4, 128,0, 126,7, 125,9, 114,2, 71,5, 55,7, 55,3, 47,4, 46,5, 35,3, 25,5, 24,6, 19,6, 17,8 м. ч. Чистота: LCMS >97,1 % (214 нм і 254 нм); час утримування 0,88 хв.; (M+1) 393,4.

Препаративна процедура Т

5 Приклад 73

Хінуклідин-3-іл-2-(5-(4-фторфеніл)-тіофен-3-іл)-пропан-2-ілкарбамат

До перемішаного і охолодженого розчину (0 °C) етил-5-бромтіофен-3-карбоксилату (13,30 г, 56,57 ммоль) в THF (100 мл) протягом 20 хвилин по краплях додавали розчин метилмагнійброміду в діетиловому простому ефірі [3,0 M] (55,0 мл, 165 ммоль). Через 2 години реакційний розчин концентрували. Залишок змішували з водним NH_4Cl (200 мл) і екстрагували етилацетатом (2×100 мл). Об'єднані екстракти сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Масло янтарного кольору, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан-етилацетатний градієнт, отримуючи 2-(5-бромтіофен-3-іл)-пропан-2-ол у вигляді масла світло-янтарного кольору (8,05 г, 64 %).

15 До перемішаного розчину 2-(5-бромтіофен-3-іл)-пропан-2-олу (8,03 г, 36,3 ммоль) в метиленхлориді (80 мл) додавали азид натрію (7,08 г, 109 ммоль), а потім трифтороцтову кислоту (8,0 мл; по краплях протягом 5-6 хвилин). Густіючу суспензію перемішували протягом 1,5 годин, після чого розбавляли водою (350 мл) і екстрагували етилацетатом (1×200 мл). Органічний шар промивали водним NaHCO_3 (1×250 мл), сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи продукт у вигляді неочищеного азиду. До перемішаного розчину цього матеріалу в THF (160 мл) додавали воду (11 мл), потім трифенілфосфін (23,8 г, 90,7 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2 днів і потім концентрували. Залишок, отриманий в результаті цього, розчиняли в етилацетаті (250 мл) і екстрагували 1 н водної HCl (4×75 мл). Об'єднані екстракти підлугували концентрованим NH_4OH і екстрагували етилацетатом (2×100 мл). Ці екстракти, в свою чергу, сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Масло янтарного кольору, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи метиленхлорид-метанол-аміачний градієнт, отримуючи суміш 2-(5-бромтіофен-3-іл)-пропан-2-аміну і трифенілфосфіноксиду (в приблизному співвідношенні 70/30) у вигляді в'язкого масла янтарного кольору (1,32 г, 17 %).

30 До перемішаного розчину 3-хінуклідинолу (3,00 г, 23,6 ммоль) в THF (100 мл) додавали 4-нітрофенілхлорформіат (5,94 г, 29,5). Після перемішування протягом 4 годин, осад відфільтровували, обполіскували THF і сушили на повітрі на фільтрі в неглибокому вакуумі. Шар на фільтрі розчиняли в етилацетаті (150 мл) і промивали водним NaHCO_3 (1×150 мл) і водою (2×150 мл). Органічний шар сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи продукт у вигляді неочищеного 4-нітрофенілхінуклідин-3-ілкарбонату, який без очищення використовували на наступній стадії.

40 До перемішаного розчину 2-(5-бромтіофен-3-іл)-пропан-2-аміну (0,366 г, 1,66 ммоль) в THF (10 мл) додавали 4-нітрофенілхінуклідин-3-ілкарбонат (0,571 г, 1,95 ммоль) і декілька гранул 4-(диметиламіно)-піридину. Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом ночі, концентрували і розподіляли між етилацетатом (50 мл) і водним NaHCO_3 (50 мл). Органічний шар знову промивали водним NaHCO_3 (1×50 мл), сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Отриману в результаті цього бруднувато-жовту смолу очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи хлороформ-метанол-аміачний градієнт і отримуючи хінуклідин-3-іл-(1-(5-бромтіофен-3-іл)-циклопропіл)-карбамат у вигляді світло-сірої твердої речовини (0,305 г, 49 %).

45 Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-(1-(5-бромтіофен-3-іл)-циклопропіл)-карбамату (0,227 г, 0,742 ммоль), 4-фторфенілборонової кислоти (0,208 г, 1,49 ммоль), трициклогексилфосфіну (0,021 г, 0,075 ммоль), фосфату калію (0,866, 4,08 ммоль) і ацетат паладію (8,0 мг, 36 мкмоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді твердої речовини сірого кольору (0,142 г, 49 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,60-7,45 (м, 2H), 7,24-7,19 (м, 1H), 7,10-6,97 (м, 3H), 5,23 (шир. с, 1H), 4,72-4,61 (м, 1H), 3,30-3,04 (м, 1H), 3,03-2,25 (м, 5H), 2,09-1,02 (м, 11H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 162,3 (д, J=247,1 Гц), 154,5, 149,8, 143,6, 130,7, 127,4 (д, J=8,1 Гц), 121,8, 118,9, 115,8 (д, J=21,6 Гц), 70,8, 55,5, 53,4, 47,3, 46,4, 29,0, 25,4, 24,4, 19,4 м. ч. Чистота: 95,8 % UPLCMS (210 нм і 254 нм); час утримування 0,90 хв.; (M+1) 389.

Препаративна процедура U

55 Приклад 74

(S)-хінуклідин-3-іл-2-(3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-5-іл)-пропан-2-ілкарбамат

До перемішаного розчину 2-(3-(4-фторфеніл)-ізотіазол-5-іл)-пропан-2-аміну (1,21 г, 5,12 ммоль) в толуолі додавали розчин фосгену в толуолі [-1,9 M] (10,8 мл, 20,5 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом двох годин і потім концентрували. Залишок випарювали з толуолом (2×15 мл), отримуючи неочищену ізоціанатну

проміжну сполуку у вигляді масла золотистого кольору. Цей матеріал змішували з толуолом (10 мл) і обробляли (S)-3-хінуклідином (0,749 г, 5,89 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом ночі і концентрували. Залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи хлороформ-метанол-аміачний градієнт, отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (0,971 г, 49 %). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,09-8,00 (м, 2H), 7,87 (шир. с, 1H), 7,75 (с, 1H), 7,35-7,25 (м, 2H), 4,54-4,45 (м, 1H), 3,14-2,92 (м, 1H), 2,87-2,17 (м, 5H), 1,98-0,98 (м, 11H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 180,1, 165,6, 162,6 (д, J=246,4 Гц), 154,7, 131,2 (д, J=3,0 Гц), 128,7 (д, J=8,4 Гц), 118,2, 115,7 (д, J=21,8 Гц), 70,6, 55,3, 52,8, 46,9, 45,9, 29,9, 25,2, 24,2, 19,2 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм і 254 нм); час утримування 0,82 хв.; (M+1) 390.

Препаративна процедура V

Приклад 75

(S)-хінуклідин-3-іл-2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-ілкарбамат

До перемішуваного розчину 4-фтортіобензаміду (8,94 г, 57,6 ммоль) в етанолі (70 мл) додавали етил-4-хлорацетоацетат (7,8 мл, 58 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 4 годин, обробляли додатковою аліквотою етил-4-хлорацетоацетату (1,0 мл, 7,4 ммоль) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом додаткових 3,5 годин. Реакційну суміш потім концентрували і залишок розподіляли між етилацетатом (200 мл) і водним NaHCO₃ (200 мл). Органічний шар об'єднували зі зворотним екстрактом водного шару (етилацетат, 1×75 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Масло янтарного кольору, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан-етилацетатний градієнт, отримуючи етил-2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-ацетат у вигляді низькоплавкої майже безбарвної твердої речовини (13,58 г, 89 %).

До перемішуваного розчину етил-2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-ацетату (6,28 г, 23,7 ммоль) в DMF (50 мл) додавали гідрид натрію [60 %-на дисперсія в мінеральному маслі] (2,84 г, 71,0 ммоль). Пінисту суміш перемішували протягом 15 хвилин, після чого охолоджували на крижаній бані і додавали йодметан (4,4 мл, 71 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі, даючи охолоджуючій бані можливість повільно нагріватися до кімнатної температури. Потім суміш концентрували і залишок розподіляли між етилацетатом (80 мл) і водою (200 мл). Органічний шар промивали другою порцією води (1×200 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Масло янтарного кольору, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан-етилацетатний градієнт, отримуючи етил-2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-2-метилпропаноат у вигляді безбарвного масла (4,57 г, 66 %).

До перемішуваного розчину етил-2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-2-метилпропаноату (4,56 г, 15,5 ммоль) в суміші THF з етанолом і водою (1:1:1, 45 мл) додавали моногідрат гідроксиду літію (2,93 г, 69,8 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі, концентрували і повторно розчиняли у воді (175 мл). Розчин промивали простим ефіром (1×100 мл), підкислювали, додаючи 1,0 н HCl (80 мл) і екстрагували етилацетатом (2×70 мл). Об'єднані екстракти сушили (Na₂SO₄) і концентрували, отримуючи 2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-2-метилпропанову кислоту у вигляді білої твердої речовини (4,04 г, 98 %). Цей матеріал без очищення використали на наступній стадії.

До перемішуваного і охолоджуваного розчину (0 °C) 2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-2-метилпропанової кислоти (4,02 г, 15,2 ммоль) в THF (100 мл) додавали триетиламін (4,2 мл, 30 ммоль), за яким йшов ізобутилхлорформіат (3,0 мл, 23 ммоль). Реакційну суміш перемішували на холоді протягом ще однієї години, після чого додавали розчин азиду натрію (1,98 г, 30,5 ммоль) у воді (20 мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі, даючи охолоджуючій бані можливість повільно нагріватися до кімнатної температури. Потім суміш розбавляли водою (100 мл) і екстрагували етилацетатом (2×60 мл). Об'єднані екстракти промивали водним NaHCO₃ (1×150 мл) і насиченим сольовим розчином (1×100 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Після випарювання з толуолом (2×50 мл) тверду речовину, отриману в результаті цього, змішували з толуолом (100 мл) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 4 годин. Потім додавали (S)-3-хінуклідином (3,87 г, 30,4 ммоль) і кип'ятіння зі зворотним холодильником продовжували протягом ночі. Реакційну суміш концентрували і залишок розподіляли між етилацетатом (100 мл) і водним NaHCO₃ (150 мл). Органічний шар промивали водою (1×150 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Світло-сіру тверду речовину, отриману в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи хлороформ-метанол-аміачний градієнт, отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (4,34 г, 73%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,96-7,88 (м, 2H), 7,16-7,04 (м, 3H), 5,55 (шир. с, 1H), 4,69-4,62 (м, 1H), 3,24-3,11 (м, 1H), 3,00-2,50 (м, 5H), 2,01-1,26 (м, 11H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 166,4, 165,1, 163,8 (д, J=250,3 Гц), 162,9, 155,0, 130,1 (д, J=3,3 Гц), 128,4 (д, J=8,5 Гц), 115,9 (д, J=22,3 Гц),

112,5, 71,2, 55,7, 54,2, 47,5, 46,5, 28,0, 25,5, 24,7, 19,6 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм і 254 нм); час утримування 0,83 хв.; (M+1) 390.

Препаративна процедура W

Приклад 76

5 (S)-хінуклідин-3-іл-2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-пропан-2-ілкарбамат

До перемішаного розчину етил-3-аміно-3-тіоксопропаноату (20,00 г, 135,9 ммоль) в етанолі (120 мл) додавали 2-бром-4'-фторацетофенон (29,49 г, 135,9 ммоль). Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 1 години, концентрували і розподіляли між етилацетатом (300 мл) і водним NaHCO₃ (400 мл). Органічний шар об'єднували зі зворотним екстрактом водного шару (етилацетат, 1×100 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Світло-коричневу тверду речовину, отриману в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан-етилацетатний градієнт, отримуючи етил-2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-ацетат у вигляді світло-сірої твердої речовини (29,92 г, 83 %).

15 До перемішаного і охолодженого розчину (-78 °C) етил-2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-ацетату (10,00 г, 37,69 ммоль) в THF (250 мл) протягом 15 хвилин додавали по краплях розчин трет-бутоксиду калію в THF [1,0 M] (136 мл, 136 ммоль), за яким йшов 18-краун-6 (1,6 мл, 7,5 ммоль). Через ще 30 хвилин при -78 °C протягом 5 хвилин додавали по краплях йодметан (8,5 мл). Реакційну суміш перемішували на холоді ще протягом 2 годин, після чого виливали у воду (450 мл) і екстрагували етилацетатом (2×150 мл). Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (1×200 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Коричневе масло, отримане в результаті цього, очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи гексан-етилацетатний градієнт, отримуючи етил-2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-2-метилпропаноат у вигляді масла світло-жовтого кольору (8,64 г, 78 %).

25 До перемішаного розчину етил-2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-2-метилпропаноату (0,900 г, 3,07 ммоль) в суміші THF з етанолом і водою (1:1:1, 15 мл) додавали моногідрат гідроксиду літію (0,451 г, 10,7 ммоль). Після перемішування протягом ночі реакційну суміш концентрували і повторно розчиняли у воді (80 мл). Розчин промивали простим ефіром (1×50 мл), підкислювали, додаючи 1 н HCl (15 мл) і екстрагували етилацетатом (2×50 мл). Об'єднані екстракти сушили (Na₂SO₄) і концентрували, отримуючи 2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-2-метилпропанову кислоту у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору (0,808 г, 99 %).

30 До охолодженого і перемішаного (0 °C) 2-(4-(4-фторфеніл)-тіазол-2-іл)-2-метилпропанової кислоти (0,784 г, 2,96 ммоль) в THF (25 мл) додавали триетиламін (0,82 мл, 5,9 ммоль), за якими йшов ізобутилхлорформіат (0,58 мл, 4,4 ммоль). Реакційну суміш перемішували на холоді протягом ще однієї години, після чого додавали розчин азиду натрію (0,385 г, 5,92 ммоль) у воді (7 мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі, даючи охолоджуючій бані повільно нагріватися до кімнатної температури. Суміш потім розбавляли водою (100 мл) і екстрагували етилацетатом (2×60 мл). Об'єднані екстракти промивали водним NaHCO₃ (1×150 мл) і насиченим сольовим розчином (1×100 мл), сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Після випарювання з толуолом (2×30 мл) тверду речовину світло-сірого кольору, отриману в результаті цього, змішували з толуолом (25 мл) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 4 годин. Потім додавали (S)-3-хінуклідинол (0,753 г, 5,92 ммоль) і кип'ятіння зі зворотним холодильником продовжували протягом 3 годин. Реакційну суміш концентрували і залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії, використовуючи хлороформ-метанол-аміачний градієнт, отримуючи сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (0,793 г, 69 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,90-7,81 (м, 2H), 7,32 (с, 1H), 7,14-7,05 (м, 2H), 5,76 (шир. с, 1H), 4,72-4,65 (м, 1H), 3,26-3,10 (м, 1H), 3,03-2,37 (м, 5H), 2,05-1,23 (м, 11H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 177,6, 162,6 (д, J=248,4 Гц), 154,8, 153,6, 130,8 (д, J=3,2 Гц), 128,1 (д, J=8,1 Гц), 115,9 (д, J=21,7 Гц), 112,2, 71,6, 55,7, 47,4, 46,5, 29,1, 25,4, 24,7, 19,6 м. ч. Чистота: 100 % UPLCMS (210 нм і 254 нм); час утримування 0,82 хв.; (M+1) 390.

50 Приклад 77

Хінуклідин-3-іл-1-(4-(бензилокси)-феніл)-циклопропілкарбамат

55 Суміш 4-ціанофенолу (5,0 г, 42 ммоль), бензилброміду (8,6 г, 50 ммоль), карбонату калію (11,6 г, 84,0 ммоль) в DMF (40 мл) перемішували при 100 °C протягом 3 годин. Осад відфільтровували і фільтрат розбавляли EtOAc і промивали водою. Органічний шар сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Неочищений продукт, отриманий в результаті цього, очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (елюючи сумішшю петролейного ефіру з EtOAc від 20/1 до 5/1), отримуючи 4-(бензилокси)-бензонітрил у вигляді білої твердої речовини (8,1 г, 92 %).

Застосовуючи загальну процедуру G, 4-(бензилокси)-бензонітрил (6,00 г, 28,7 ммоль) перетворювали у відповідний 1-(4-(бензилокси)-феніл)-циклопропанамін, що отримується у вигляді жовтої твердої речовини (1,8 г, 26 %).

Застосовуючи загальну процедуру A, з 1-(4-(бензилокси)-феніл)-циклопропанаміну (600 мг, 2,51 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (170 мг, 17 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,34 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 7,30 (т, $J=7,0$ Гц, 2H), 7,25 (т, $J=7,0$ Гц, 1H), 7,16 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,07 (д, $J=7,0$ Гц, 1H), 6,83 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 5,50 (шир. с, 0,6 H), 5,40 (шир. с, 0,4 H), 4,96 (с, 2H), 4,64 (м, 1H), 3,20-3,15 (м, 1H), 2,88-2,50 (м, 5H), 1,95-1,05 (м, 9H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 156,6, 154,8, 136,0, 134,2, 127,6, 126,9, 126,4, 125,4, 113,7, 70,0, 69,0, 54,5, 46,3, 45,4, 34,2, 24,3, 23,3, 18,3, 15,8 м. ч. Чистота: >90 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,57 хв.; (M+1) 393.

Приклад 78

Хінуклідин-3-ілбіфеніл-3-ілметилкарбамат

До охолоджуваного (0 °C) трифосгену (0,80 г, 2,7 ммоль) в THF (20 мл) протягом 2 годин додавали по краплях суміш (3-бромфеніл)-метанаміну (1,0 г, 5,4 ммоль) і триетиламіну (1,08 г, 10,7 ммоль) в THF (30 мл). Після завершення цього додавання суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 1 години і потім охолоджували до кімнатної температури. Додавали хінуклідин-3-ол (1,40 г, 10,7 ммоль) і суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчинник видаляли у вакуумі, і залишок розчиняли в EtOAc, промивали водою, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Неочищений залишок очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (елюючи сумішшю EtOAc/метанол, 10/1), отримуючи хінуклідин-3-іл-3-бромбензилкарбамат у вигляді безбарвної рідини (0,68 г, 37 %).

Застосовуючи загальну процедуру E, з хінуклідин-3-іл-3-бромбензилкарбамату (237 мг, 0,700 ммоль), фенілборонової кислоти (171 мг, 1,4 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (110 мг, 47 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,57 (д, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,50 (м, 2H), 7,62-7,38 (м, 3H), 7,35 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,28 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,32-5,17 (м, 1H), 7,78 (м, 1H), 4,42 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 3,26 (м, 1H), 2,95-2,65 (м, 5H), 2,05 (м, 1H), 1,84 (м, 1H), 1,70 (м, 1H), 1,58 (м, 1H), 1,42 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 155,2, 140,7, 139,8, 138,0, 128,1, 127,8, 126,4, 126,1, 125,5, 125,4, 125,3, 70,1, 54,4, 46,2, 45,3, 44,1, 24,3, 23,1, 18,2 м. ч. Чистота: >98 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,44 хв.; (M+1) 337.

Приклад 79

Хінуклідин-3-іл-3-(піримідин-5-іл)-бензилкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру E, з хінуклідин-3-іл-3-бромбензилкарбамату (203 мг, 0,600 ммоль), піримідин-5-ілборонової кислоти (149 мг, 1,2 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (110 мг, 54 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 9,20 (с, 1H), 8,94 (с, 2H), 7,51 (м, 3H), 7,40 (м, 1H), 5,62 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,50-4,40 (м, 2H), 3,30 (м, 1H), 2,97-2,65 (м, 5H), 2,12 (м, 1H), 1,92-1,82 (м, 1H), 1,79-1,69 (м, 1H), 1,65-1,56 (м, 1H), 1,50-1,42 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 157,6, 156,2, 154,9, 140,1, 134,7, 134,1, 129,8, 128,2, 126,2, 70,9, 55,2, 47,2, 46,2, 44,8, 25,2, 23,8, 19,0 м. ч. Чистота: >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,22 хв.; (M+1) 339.

Приклад 80

Хінуклідин-3-іл-3-(бензилокси)-бензилкарбамат

Суміш 2-(3-гідроксифеніл)-оцтової кислоти (0,6 г, 3,95 ммоль), бензил броміду (0,710 г, 4,14 ммоль), гідроксиду калію (0,550 г, 9,87 ммоль) і KI (13 мг, 0,079 ммоль) в THF (20 мл) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчинник видаляли і залишок розчиняли в 50 мл води і екстрагували простим ефіром. Водний шар підкислювали 1 н водної HCl і відфільтровували білий осад, що утворився, отримуючи 2-(3-(бензилокси)-феніл)-оцтову кислоту у вигляді твердої речовини сірого кольору (0,87 г, 91 %).

Застосовуючи загальну процедуру H, з 2-(3-(бензилокси)-феніл)-оцтової кислоти (242 мг, 1,00 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (200 мг, 55 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,42 (д, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,38 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,32 (т, $J=7,0$ Гц, 1H), 7,24 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 6,92 (с, 1H), 6,88 (д, $J=7,0$ Гц, 2H), 5,30 (м, 1H), 5,05 (с, 2H), 4,75 (м, 1H), 4,32 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 3,23 (м, 1H), 2,93-2,60 (м, 5H), 2,08-1,96 (м, 1H), 1,88-1,75 (м, 1H), 1,72-1,62 (м, 1H), 1,60-1,50 (м, 1H), 1,42-1,34 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 159,1, 156,3, 140,2, 136,8, 129,7, 128,6, 128,0, 127,5, 120,0, 114,1, 113,6, 71,3, 70,0, 55,5, 47,3, 46,4, 45,0, 25,4, 24,3, 19,3 м. ч. Чистота: >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,51 хв.; (M+1) 367

Приклад 81

Хінуклідин-3-іл-4-феноксibenзилкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Н, з 2-(3-феноксифеніл)-оцтової кислоти (228 мг, 1,00 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (70 мг, 20 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,29-7,18 (м, 3H), 7,03 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,96-6,90 (м, 3H), 6,86 (с, 1H), 6,82 (д, J=8,5 Гц, 1H), 5,40-5,15 (м, 1H), 4,70 (м, 1H), 4,25 (д, J=6,0 Гц, 2H), 3,18 (м, 1H), 2,90-2,60 (м, 5H), 2,03-1,92 (м, 1H), 1,82-1,74 (м, 1H), 1,68-1,60 (м, 1H), 1,57-1,45 (м, 1H), 1,40-1,32 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 156,6, 155,9, 155,1, 139,6, 129,0, 128,8, 122,4, 121,1, 118,0, 116,7, 69,7, 54,1, 46,1, 45,2, 43,7, 24,2, 22,7, 18,0 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,50 хв.; (M+1) 353.

Приклад 82

Хінуклідин-3-іл-3-ізопропоксибензилкарбамат

Суміш, що містила 2-(3-гідроксифеніл)-оцтову кислоту (0,800 г, 5,26 ммоль), 2-бромпропан (0,971 г, 7,89 ммоль), гідроксид калію (0,740 г, 13,2 ммоль) і KI (18 мг, 0,11 ммоль) в 20 мл EtOH, кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчинник видаляли і залишок розчиняли в 50 мл води і екстрагували простим ефіром. Водний шар підкислювали 1 н водної HCl і екстрагували EtOAc. Органічні шари сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи залишок, який очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/EtOAc, 4:1), отримуючи 2-(3-(бензилокси)-феніл)-оцтову кислоту у вигляді білої твердої речовини (0,45 г, 44 %).

Застосовуючи загальну процедуру Н, з 2-(3-ізопропоксифеніл)-оцтової кислоти (291 мг, 1,50 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (120 мг, 25 %). ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,23 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,86-6,77 (м, 3H), 5,16-5,00 (м, 1H), 4,78 (м, 1H), 4,55 (м, 1H), 4,32 (д, J=5,0 Гц, 2H), 3,26 (м, 1H), 2,95-2,70 (м, 5H), 2,10-2,05 (м, 1H), 1,90-1,80 (м, 1H), 1,75-1,65 (м, 1H), 1,63-1,53 (м, 1H), 1,47-1,37 (м, 1H), 1,33 (д, J=5,5 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 158,1, 156,2, 140,1, 129,7, 119,6, 115,2, 114,6, 71,0, 69,8, 55,3, 47,2, 46,3, 45,0, 25,3, 24,1, 22,0, 19,2 м. ч. Чистота: >90 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,42 хв.; (M+1) 319.

Приклад 83

Хінуклідин-3-іл-3-ізобутоксibenзилкарбамат

Суміш, що містила 2-(3-гідроксифеніл)-оцтову кислоту (1,0 г, 6,6 ммоль), 1-бром-2-метилпропан (1,08 г, 7,91 ммоль), гідроксид калію (0,920 г, 16,4 ммоль) і KI (22 мг, 0,13 ммоль) в EtOH (20 мл), кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчинник видаляли і залишок розчиняли в 50 мл води і екстрагували простим ефіром. Водний шар підкислювали 1 н водної HCl і екстрагували EtOAc. Органічні шари сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи залишок, який очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/EtOAc, 4:1), отримуючи 2-(3-(бензилокси)-феніл)-оцтову кислоту у вигляді білої твердої речовини (0,42 г, 31 %).

Застосовуючи загальну процедуру Н, з 2-(3-ізобутоксифеніл)-оцтової кислоти (208 мг, 1,00 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкої напіврідкої речовини (130 мг, 39 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,23 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,86-6,76 (м, 3H), 5,35-5,10 (м, 1H), 4,77 (м, 1H), 4,31 (д, J=5,5 Гц, 2H), 3,69 (д, J=6,5 Гц, 2H), 3,26 (м, 1H), 2,95-2,70 (м, 5H), 2,10-2,00 (м, 2H), 1,88-1,80 (м, 1H), 1,75-1,63 (м, 1H), 1,62-1,52 (м, 1H), 1,45-1,36 (м, 1H), 1,01 (д, J=6,5 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 159,6, 156,1, 139,9, 129,7, 119,6, 113,9, 113,4, 74,4, 70,9, 55,3, 47,2, 46,3, 45,1, 28,3, 25,3, 23,9, 19,3, 19,1 м. ч. Чистота: >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,50 хв.; (M+1) 333.

Приклад 84

Хінуклідин-3-іл-3-(циклопропілметокси)-бензилкарбамат

Суміш, що містила 2-(3-гідроксифеніл)-оцтову кислоту (1,0 г, 6,6 ммоль), (бромметил)-циклопропан (0,97 г, 7,2 ммоль), гідроксид калію (0,920 г, 16,4 ммоль) і KI (22 мг, 0,13 ммоль) в EtOH (20 мл), кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 18 годин. Розчинник видаляли у вакуумі і залишок розчиняли в 50 мл води і екстрагували простим ефіром. Водний шар підкислювали 1 н водної HCl і екстрагували EtOAc. Органічні шари сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи залишок, який очищали за допомогою хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/EtOAc 4:1), отримуючи 2-(3-(циклопропілметокси)-феніл)-оцтову кислоту у вигляді білої твердої речовини (0,80 г, 59%).

Застосовуючи загальну процедуру Н, з 2-(3-(циклопропілметокси)-феніл)-оцтової кислоти (300 мг, 1,50 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (90 мг, 19 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,24 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,88-6,78 (м, 3H), 5,13-4,95 (м, 1H), 4,74 (м, 1H), 4,33 (д, J=6,0 Гц, 2H), 3,79 (д, J=7,0 Гц, 2H), 3,23 (м, 1H), 2,93-2,63 (м, 5H), 2,04-1,98 (м, 1H), 1,85-1,76 (м, 1H), 1,72-1,60 (м, 1H), 1,58-1,50 (м, 1H), 1,41-1,22 (м, 2H),

0,68-0,62 (м, 2H), 0,37-0,32 (м, 2H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 158,2, 155,5, 139,3, 128,6, 118,6, 112,8, 112,3, 71,7, 70,4, 54,5, 46,2, 45,3, 43,9, 24,4, 23,5, 18,5, 9,3, 2,2 м. ч. Чистота: >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,44 хв.; (M+1) 331.

Препаративна процедура X

5 Приклад 85

N-(2-(біфеніл-4-іл)-пропан-2-іл)-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетамід

До розчину гідрохлориду 2-(хінуклідин-3-іл)-оцтової кислоти (0,97 г, 4,7 ммоль) в DMF (30 мл) додавали НАТУ (1,79 г, 4,72 ммоль), 2-(4-бромфеніл)-пропан-2-амін (1,0 г, 4,7 ммоль) і триетиламін (3,9 мл, 28 ммоль). Суміш, отриману в результаті цього, перемішували при 60 °C протягом 16 годин. Суміш концентрували у вакуумі, розбавляли EtOAc і промивали насиченим сольовим розчином. Органічний шар сушили над Na_2SO_4 і випарювали, отримуючи неочищений продукт, який очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (EtOAc/метанол, від 50/1 до 3/1), отримуючи N-(2-(4-бромфеніл)-пропан-2-іл)-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетамід у вигляді жовтої твердої речовини (1,3 г, 76 %).

15 Застосовуючи загальну процедуру E, з N-(2-(4-бромфеніл)-пропан-2-іл)-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетаміду (200 мг, 0,550 ммоль), фенілборонової кислоти (134 мг, 1,00 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого коричневого масла (58 мг, 32 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,58-7,50 (м, 4H), 7,44-7,37 (м, 4H), 7,31 (т, J=7,0 Гц, 1H), 6,50 (с, 1H), 3,16 (м, 1H), 3,02 (м, 1H), 2,92-2,78 (м, 3H), 2,60 (м, 1H), 2,40-2,20 (м, 3H), 20 1,47-1,90 (м, 11H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 170,5, 146,1, 140,7, 139,2, 128,8, 127,2, 127,0, 125,2, 55,6, 53,1, 46,8, 46,2, 40,3, 31,7, 29,3, 29,2, 26,0, 24,4, 19,7 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,55 хв.; (M+1) 363.

Приклад 86

Хінуклідин-3-ілбіфеніл-3-ілкарбамат

25 До розчину хінуклідин-3-олу (635 мг, 5,00 ммоль) в THF (15 мл) додавали NaH [60 %-на дисперсія в мінеральному маслі] (260 мг, 6,50 ммоль) при кімнатній температурі. Суміш перемішували протягом 15 хв. і при перемішуванні додавали 3-бромфенілізоціанат (990 мг, 5,00 ммоль). Суміш, отриману в результаті цього, перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин, гасили насиченим сольовим розчином і екстрагували EtOAc. Органічні шари об'єднували, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (елюючи сумішшю EtOAc/метанол, 3:1), отримуючи хінуклідин-3-іл-3-бромфенілкарбамат у вигляді білої твердої речовини (0,70 г, 43 %).

35 Застосовуючи загальну процедуру E, з вищезгаданої карбаматної проміжної сполуки (130 мг, 0,402 ммоль), фенілборонової кислоти (72 мг, 0,6 ммоль) і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (75 мг, 58 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,67 (шир. с, 1H), 7,59 (д, J=7,5 Гц, 2H), 7,43 (т, J=7,5 Гц, 2H), 7,41-7,28 (м, 4H), 6,77 (шир. с, 1H), 4,85 (м, 1H), 3,30 (м, 1H), 2,98-2,75 (м, 5H), 2,12 (м, 1H), 1,93-1,68 (м, 2H), 1,64-1,55 (м, 1H), 1,47-1,40 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 153,3, 142,3, 140,7, 138,3, 129,5, 128,8, 127,5, 127,2, 122,3, 117,4, 72,1, 55,4, 47,4, 46,5, 30,9, 25,4, 24,5, 19,5 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,53 хв.; (M+1) 323.

Приклад 87

Хінуклідин-3-іл-2'-метоксибіфеніл-3-ілкарбамат

45 Застосовуючи загальну процедуру E, з хінуклідин-3-іл-3-бромфенілкарбамату, 2-метокси-фенілборонової кислоти і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (75 мг, 58 %). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,49 (шир. с, 1H), 7,41 (шир. с, 1H), 7,37-7,28 (м, 3H), 7,23 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,04-6,94 (м, 3H), 4,83 (м, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,29 (м, 1H), 2,97-2,70 (м, 5H), 2,10 (м, 1H), 1,91-1,82 (м, 1H), 1,74-1,65 (м, 1H), 1,62-1,53 (м, 1H), 1,46-1,37 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, CDCl_3) δ 156,4, 153,4, 139,4, 137,6, 130,9, 130,2, 128,8, 128,6, 124,8, 120,8, 119,9, 117,3, 111,2, 72,0, 55,6, 55,4, 47,4, 46,5, 25,4, 24,5, 19,5 м. ч. Чистота: 50 >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,52 хв.; (M+1) 353.

Приклад 88

Хінуклідин-3-іл-2'-етилбіфеніл-3-ілкарбамат

55 Застосовуючи загальну процедуру E, з хінуклідин-3-іл-3-бромфенілкарбамату, 2-етилфенілборонової кислоти і $[\text{PdCl}_2(\text{pddf})]\text{CH}_2\text{Cl}_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (110 мг, 78 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,42-7,28 (м, 5H), 7,25-7,16 (м, 2H), 7,03-7,00 (м, 1H), 6,88 (шир. с, 1H), 4,83 (м, 1H), 3,27 (м, 1H), 2,98-2,70 (м, 5H), 2,61 (кв., J=7,6 Гц, 2H), 2,08 (м, 1H), 1,92-1,80 (м, 1H), 1,75-1,65 (м, 1H), 1,63-1,55 (м, 1H), 1,46-1,37 (м, 1H), 1,10 (т, J=7,6 Гц, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 152,1, 141,7, 140,4, 139,9, 136,4, 128,6, 127,5, 127,4, 126,4, 124,3, 123,2, 118,4, 115,9, 71,0, 54,3, 46,2, 45,3, 25,0, 24,2, 23,4, 18,3, 60 14,5 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,61 хв.; (M+1) 351.

Приклад 89

Хінуклідин-3-іл-3'-метоксибіфеніл-3-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-3-бромфенілкарбамату, 3-метоксифенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (100 мг, 71 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,63 (шир. с, 1H), 7,40-7,27 (м, 4H), 7,17 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,11 (м, 1H), 7,07 (шир. с, 1H), 6,89 (дд, $J=8,0$, 2,0 Гц, 1H), 4,85 (м, 1H), 3,85 (с, 3H), 3,30 (м, 1H), 2,99-2,70 (м, 5H), 2,12 (м, 1H), 1,92-1,84 (м, 1H), 1,75-1,68 (м, 1H), 1,62-1,55 (м, 1H), 1,48-1,40 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 159,9, 153,4, 142,3, 142,1, 138,4, 129,8, 129,4, 122,3, 119,7, 117,7, 112,9, 112,8, 72,0, 55,4, 55,3, 47,4, 46,5, 25,4, 24,5, 19,5 м. ч. Чистота: >97 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,52 хв.; (M+1) 353

Приклад 90

Хінуклідин-3-іл-3'-етилбіфеніл-3-ілкарбамат

До розчину 1-бром-3-етилбензолу (370 мг, 2,00 ммоль) в 5 мл 1,4-діоксану додавали біс-(пінаcolato)-дйборан (609 мг, 2,40 ммоль), CH_3COOK (589 мг, 6,02 ммоль) і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ (75 мг, 0,09 ммоль). Суміш перемішували при 80 °С протягом 5 годин. Суміш охолоджували, розбавляли водою і екстрагували $EtOAc$. Об'єднані екстракти сушили (Na_2SO_4) і концентрували, отримуючи неочищений боронат (410 мг, >100 %), який без очищення використали на наступній стадії.

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-3-бромфенілкарбамату, 3-етилфенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (78 мг, 56 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,64 (шир. с, 1H), 7,43-7,27 (м, 6H), 7,24 (шир. с, 1H), 7,18 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 4,85 (м, 1H), 3,30 (м, 1H), 2,99-2,73 (м, 5H), 2,70 (кв., $J=7,5$ Гц, 2H), 2,12 (м, 1H), 1,92-1,84 (м, 1H), 1,75-1,67 (м, 1H), 1,62-1,55 (м, 1H), 1,48-1,38 (м, 1H), 1,27 (т, $J=7,5$ Гц, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 153,5, 144,8, 142,4, 140,8, 138,4, 129,4, 128,8, 127,1, 126,8, 124,6, 122,3, 117,4, 72,1, 55,4, 47,4, 46,5, 29,0, 25,4, 24,5, 19,5, 15,7 м. ч. Чистота: >98 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,66 хв.; (M+1) 351.

Приклад 91

Хінуклідин-3-ілбіфеніл-2-ілкарбамат

До розчину хінуклідин-3-олу (382 мг, 3,00 ммоль) в THF (15 мл) при кімнатній температурі додавали NaN [60 %-на дисперсія в мінеральному маслі] (156 мг, 3,90 ммоль). Суміш перемішували протягом 15 хв. і при перемішуванні додавали 2-бромфенілізоціанат (594 мг, 3,00 ммоль). Суміш, отриману в результаті цього, перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин, гасили насиченим сольовим розчином і екстрагували $EtOAc$. Органічні шари об'єднували, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Неочищений продукт, отриманий в результаті цього, очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем ($EtOAc$ /метанол, 3:1), отримуючи як продукт хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамат у вигляді в'язкого масла (0,80 г, 82 %).

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамату (130 мг, 0,400 ммоль), фенілборонової кислоти (96 мг, 0,8 ммоль) і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (112 мг, 87 %). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,07 (шир. с, 1H), 7,55-7,33 (м, 6H), 7,25-7,21 (дд, $J=7,6$ і 1,6 Гц, 1H), 7,43 (тд, $J=8,0$, 1,2 Гц, 1H), 6,65 (шир. с, 1H), 4,78 (м, 1H), 3,24 (м, 1H), 2,90-2,68 (м, 5H), 2,04 (м, 1H), 1,80-1,62 (м, 2H), 1,61-1,50 (м, 1H), 1,41-1,30 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (100 МГц, $CDCl_3$) δ 151,2, 135,9, 132,5, 129,5, 128,0, 127,0, 126,9, 126,2, 125,7, 121,4, 117,9, 69,9, 53,1, 45,1, 44,3, 23,1, 22,3, 17,2 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,47 хв.; (M+1) 323.

Приклад 92

Хінуклідин-3-іл-2'-метоксибіфеніл-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамату, 2-метоксифенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (102 мг, 72 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,95 (шир. с, 1H), 7,42 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,37 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,25 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,15 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,09 (т, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,04 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 6,72 (шир. с, 1H), 4,76 (м, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,23 (м, 1H), 2,90-2,64 (м, 5H), 1,98-2,08 (м, 1H), 1,81-1,63 (м, 2H), 1,60-1,50 (м, 1H), 1,42-1,30 (м, 1H) м. ч., ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 156,2, 153,8, 135,6, 132,1, 130,9, 129,7, 128,3, 127,1, 123,8, 121,5, 111,3, 71,8, 55,7, 55,5, 47,3, 46,5, 25,3, 24,5, 19,4 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,48 хв.; (M+1) 353.

Приклад 93

Хінуклідин-3-іл-2'-етилбіфеніл-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамату, 2-етилфенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (71 мг, 51 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,11 (шир. с, 1H), 7,43-7,34 (м, 3H), 7,33-7,28 (м, 1H), 7,18-7,08 (м, 3H), 6,24 (шир. с, 1H), 4,75 (м, 1H), 3,23 (м, 1H), 2,85-2,65 (м, 5H), 2,40 (м, 2H), 2,02 (м, 1H), 1,73-1,62 (м, 2H), 1,61-1,50 (м, 1H), 1,40-1,30 (м, 1H), 1,05 (м, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 153,3, 142,9, 136,4, 135,3, 130,6, 130,3, 130,1, 129,0, 128,7, 128,4, 126,4, 123,0, 119,1, 72,1, 55,2, 47,3, 46,4, 26,0, 25,3, 24,5, 19,3, 15,2 м. ч. Чистота: >98 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,55 хв.; (M+1) 351.

Приклад 94

Хінуклідин-3-іл-3'-метоксибифеніл-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамату, 3-метоксифенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (120 мг, 85 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,08 (шир. с, 1H), 7,40 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,36 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,23 (дд, J=7,5, 1,5 Гц, 1H), 7,13 (тд, J=7,5, 1,5 Гц, 1H), 6,96 (дд, J=8,0, 2,0 Гц, 2H), 6,91 (т, J=1,5 Гц, 1H), 6,73 (шир. с, 1H), 4,79 (м, 1H), 3,84 (с, 3H), 3,24 (м, 1H), 2,90-2,70 (м, 5H), 2,05 (м, 1H), 1,80-1,70 (м, 2H), 1,62-1,52 (м, 1H), 1,41-1,32 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 160,1, 153,4, 139,5, 134,7, 131,5, 130,1, 130,1, 128,5, 123,5, 121,4, 119,9, 114,7, 113,6, 72,1, 55,3, 55,3, 47,3, 46,5, 25,3, 24,5, 19,4 м. ч. Чистота: >98 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,48 хв.; (M+1) 353

Приклад 95

Хінуклідин-3-іл-3'-етилбифеніл-2-ілкарбамат

Застосовуючи загальну процедуру Е, з хінуклідин-3-іл-2-бромфенілкарбамату, 3-етилфенілборонової кислоти і $[PdCl_2(pddf)]CH_2Cl_2$ отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (120 мг, 86 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,09 (шир. с, 1H), 7,41 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,36 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,26-7,18 (м, 4H), 7,14 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,71 (шир. с, 1H), 4,79 (м, 1H), 3,25 (м, 1H), 2,90-2,65 (м, 7H), 2,05 (м, 1H), 1,80-1,64 (м, 2H), 1,62-1,52 (м, 1H), 1,40-1,32 (м, 1H), 1,28 (т, J=7,5 Гц, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 153,4, 145,2, 138,1, 134,7, 131,8, 130,2, 129,1, 128,8, 128,4, 127,5, 126,6, 123,5, 120,1, 72,0, 55,3, 47,3, 46,4, 28,9, 25,3, 24,5, 19,4, 15,7 м. ч. Чистота: >95 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,55 хв.; (M+1) 351.

Препаративна процедура Y

Приклад 96

Хінуклідин-3-іл-2-ізопропоксибензолкарбамат

До суміші 3-амінофенолу (1,50 г, 13,8 ммоль), ізопропанолу (3,3 г, 55 ммоль) і трифенілфосфіну (14,4 г, 54,9 ммоль) в THF (15 мл) протягом 30 хв. додавали по краплях діетилазодикарбоксилат (9,60 г, 55,0 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин і концентрували. Залишок розбавляли водою, підкислювали 2 н водної HCl і екстрагували простим ефіром. Водну фазу підлугувували 2 н водним NaOH і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Неочищений продукт, отриманий в результаті цього, очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (петролейний ефір/EtOAc, від 10:1 до 5:1), отримуючи 3-ізопропоксибензоламін у вигляді жовтого масла (1,3 г, 64%).

Застосовуючи загальну процедуру А, з 3-ізопропоксибензоламіну (300 мг, 2,00 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (130 мг, 22 %). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,20 (шир. с, 1H), 7,09 (т, J=8,5 Гц, 1H), 7,05 (шир. с, 1H), 6,77 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,51 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,46 (м, 1H), 3,26-3,18 (м, 1H), 2,92-2,65 (м, 5H), 2,04 (м, 1H), 1,80 (м, 1H), 1,63 (м, 1H), 1,52 (м, 1H), 1,35 (м, 1H), 1,28 (д, J=5,5 Гц, 6H) м. ч. ^{13}C ЯМР (125 МГц, $CDCl_3$) δ 157,5, 152,2, 138,2, 128,7, 110,1, 109,6, 105,1, 70,7, 68,9, 54,3, 46,3, 45,4, 28,7, 24,3, 23,3, 21,0, 18,3 м. ч. Чистота: >90 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,43 хв.; (M+1) 305.

Приклад 97

Хінуклідин-3-іл-2-ізобутоксифенілкарбамат

До суміші 3-амінофенолу (500 мг, 4,60 ммоль), 2-метилпропан-1-олу (1,40 г, 18,9 ммоль) і трифенілфосфіну (4,80 г, 16,2 ммоль) в THF (10 мл) протягом 30 хв. додавали по краплях діетилазодикарбоксилат (3,20 г, 18,3 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Розчинник випаровували і залишок розбавляли водою, підкислювали 2 н водної HCl і екстрагували простим ефіром. Водну фазу підлугувували 2 н водним NaOH і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари сушили (Na_2SO_4) і концентрували. Неочищений продукт, отриманий в результаті цього, очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (петролейний ефір/EtOAc, 15:1), отримуючи 3-ізобутоксифеніламін у вигляді жовтого масла (330 мг, 45%).

Застосовуючи загальну процедуру А, з 3-ізобутоксibenзоламіну (330 мг, 2,00 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (140 мг, 22 %). ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7,17 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,15 (шир. с, 1H), 6,81 (д, J=8,5 Гц, 1H), 6,80 (шир. с, 1H), 6,61 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,83 (м, 1H), 3,71 (д, J=6,5 Гц, 2H), 3,34-3,21 (м, 1H), 2,97-2,72 (м, 5H), 2,12-2,04 (м, 2H), 1,90-1,84 (м, 1H), 1,75-1,67 (м, 1H), 1,55-1,63 (м, 1H), 1,46-1,38 (м, 1H), 1,01 (д, J=6,5 Гц, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 159,9, 153,4, 139,3, 129,6, 110,6, 109,7, 105,0, 74,4, 72,0, 55,4, 47,3, 46,5, 28,3, 25,4, 24,5, 19,5, 19,3 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,56 хв.; (M+1) 319.

Приклад 98

Хінуклідин-3-іл-2-(циклопропілметокси)-фенілкарбамат

До суміші 3-амінофенолу (300 мг, 2,70 ммоль), циклопропілметанолу (793 мг, 11,0 ммоль) і трифенілфосфіну (2,90 г, 11,0 ммоль) в THF (6 мл) протягом 30 хв. додавали по краплях діетилазодикарбоксилат (1,90 г, 11,0 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Розчинник випарювали і залишок розбавляли водою, підкислювали 2 н водної HCl і екстрагували простим ефіром. Водну фазу підлугували 2 н водним NaOH і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари сушили (Na₂SO₄) і концентрували. Неочищений продукт, отриманий в результаті цього, очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем (петролейний ефір/EtOAc, 15:1), отримуючи 3-(циклопропілметокси)-бензоламін у вигляді коричневого масла (260 мг, 58%).

Застосовуючи загальну процедуру А, з 3-(циклопропілметокси)-бензоламіну (260 мг, 1,60 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді в'язкого масла (80 мг, 16 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,72 (шир. с, 1H), 7,14 (шир. с, 1H), 7,13 (т, J=8,0 Гц, 1H), 6,85 (д, J=8,0 Гц, 1H), 6,57 (дд, J=8,0, 2,0 Гц, 1H), 4,85 (м, 1H), 3,75 (д, J=6,8 Гц, 2H), 3,35-3,26 (м, 1H), 3,05-2,78 (м, 5H), 2,18-2,12 (м, 1H), 1,97-1,86 (м, 1H), 1,80-1,67 (м, 1H), 1,66-1,55 (м, 1H), 1,52-1,42 (м, 1H), 1,26-1,15 (м, 1H), 0,61-0,55 (м, 2H), 0,31-0,26 (м, 2H) м. ч. ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 158,6, 152,1, 138,3, 128,6, 109,9, 108,9, 104,0, 71,7, 69,7, 53,8, 46,0, 45,2, 28,7, 24,1, 22,4, 17,8, 9,2, 2,2 м. ч. Чистота: 100 % LCMS (214 нм і 254 нм); час утримування 1,46 хв.; (M+1) 317.

Приклад 99

1-Бензил-3-(хінуклідин-3-іл)-імідазолідин-2-он

До перемішаного розчину гідрохлориду хінуклідин-3-аміну (324 мг, 0,199 ммоль) в DMF (30 мл) додавали триетиламін (3 краплі), після якого обережно додавали (ізоціанатометил)-бензол (275 мг, 2,10 ммоль). Суміш, отриману в результаті цього, перемішували протягом 18 годин при 25 °С. Після розділення з використанням HPLC отримували 1-бензил-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовину (283 мг, 55 %).

До розчину 1-бензил-3-(хінуклідин-3-іл)-сечовини (260 мг, 1,00 ммоль) в DMF (30 мл) додавали NaN [60 %-на дисперсія в мінеральному маслі] (96 мг, 2,4 ммоль) при охолодженні на крижаній бані. Суміш, отриману в результаті цього, перемішували протягом 2 годин, після чого обережно додавали BrCH₂CH₂Br (0,75 г, 4,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 18 годин приблизно при 25 °С. Після розділення з використанням HPLC водний шар ліофілізували і очищали за допомогою препаративної ТШХ (від CHCl₃ до 5 % MeOH в CHCl₃ до 5 % 2 н NH₃(MeOH) в CHCl₃), отримуючи сполуку, вказану в заголовку, (81 мг, 28 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,19-7,22 (м, 4H), 7,11-7,14 (м, 1H), 6,09 (дд, J=15,2, 8,4 Гц, 1H), 5,45 (дд, J=15,6, 4,0 Гц, 1H), 5,30 (дд, J=8,0, 3,6 Гц, 1H), 4,17-4,29 (м, 4H), 3,66-3,75 (м, 2H), 3,47 (д, J=12,4 Гц, 1H), 3,19-3,27 (м, 3H), 2,34 (шир. с, 1H), 2,22 (д, J=2,4 Гц, 1H), 1,92 (шир. с, 2H), 1,75 (шир. с, 1H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 158,9, 141,1, 140,4, 128,7, 127,4, 127,3, 113,6, 63,6, 57,1, 56,0, 45,6, 43,9, 25,2, 23,0, 18,8 м. ч. Чистота: 93,8% HPLCMS (210 нм); час утримування 1,84 хв.; (M+1) 286.

Приклад 100

N-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-4-п-толілбутирамід

Застосовуючи загальну процедуру I, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-иламіну (200 мг, 1,00 ммоль) і п-толілмасляної кислоти (220 мг, 1,2 ммоль) отримували N-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-4-п-толілбутирамід (114 мг, 40%) у вигляді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,06 (с, 4H), 4,19 (м, 1H), 3,66-3,73 (т, J=8,4 Гц, 1H), 3,29-3,33 (м, 4H), 2,91 (дд, J=8,0, J=3,6 Гц, 1H), 2,59 (т, J=7,6 Гц, 2H), 2,28 (с, 3H), 2,24 (т, J=7,6 Гц, 2H), 2,15-2,16 (м, 1H), 2,02-2,14 (м, 1H), 1,92-2,01 (м, 2H), 1,81-1,91 (м, 3H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 175,1, 138,6, 135,1, 128,8, 128,2, 52,7, 47,4, 47,3, 44,5, 34,8, 27,3, 24,3, 21,6, 19,8, 17,1 м. ч. Чистота: 99,7% HPLCMS (210 нм); час утримування 1,76 хв.; (M+1) 287.

Приклад 101

N-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-4-(4-метоксифеніл)-бутирамід

Застосовуючи загальну процедуру I, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-иламіну (200 мг, 1,00 ммоль) і 4-(4-метоксифеніл)-масляної кислоти отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (85 мг, 28%). ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,08 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,81 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,18 (шир. с, 1H), 3,74 (с, 3H), 3,68 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 3,24-3,33 (м, 4H), 2,98-3,03 (м, 1H), 2,57 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 2,24 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 2,03-2,16 (м, 2H), 2,02 (шир. с, 2H), 1,85-1,91 (м, 3H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 175,2, 158,3, 133,6, 129,2, 113,6, 54,5, 52,6, 47,2, 46,4, 44,5, 34,9, 34,2, 27,5, 24,4, 21,5, 17,1 м. ч. Чистота: 96,4 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,76 хв.; (M+1) 303.

Приклад 102

(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-амід біфеніл-3-карбонової кислоти

Застосовуючи загальну процедуру I, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-иламіну (200 мг, 1,00 ммоль) і біфеніл-3-карбонової кислоти отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (211 мг, 68 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,86 (с, 1H), 7,59 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,53 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,40 (д, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,28 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,19 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,11 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 4,21 (шир. с, 1H), 3,56 (т, $J=11,6$ Гц, 1H), 3,11-3,22 (м, 1H), 3,05-3,10 (м, 4H), 2,10 (кв., $J=3,2$ Гц, 1H), 1,95 (шир. с, 1H), 1,79-1,83 (м, 2H), 1,59-1,20 (м, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 169,6, 141,6, 140,2, 134,5, 130,3, 129,0, 127,7, 126,9, 126,3, 125,9, 51,9, 46,4, 46,0, 45,6, 24,6, 21,6, 17,3 м. ч. Чистота: 99,8 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,60 хв.; (M+1) 307.

Приклад 103

N-(1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-2-біфеніл-4-іацетамід

Застосовуючи загальну процедуру I, з 1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-иламіну (200 мг, 1,00 ммоль) і біфеніл-4-іацетової кислоти отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (140 мг, 44%). ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,56 (т, $J=8,0$ Гц, 4H), 7,29-7,41 (м, 5H), 4,19 (шир. с, 1H), 3,70 (т, $J=7,2$ Гц, 1H), 3,58 (с, 2H), 3,24-3,31 (м, 5H), 3,12-3,19 (м, 1H), 2,16-2,17 (м, 2H), 1,95-1,98 (м, 2H), 1,82 (шир. с, 1H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 173,1, 140,8, 140,0, 134,7, 129,4, 128,7, 126,9, 52,3, 46,4, 45,9, 44,3, 41,9, 24,4, 21,5, 17,1 м. ч. Чистота: 93,9 % HPLCMS (210 нм); час утримування 2,87 хв.; (M+1) 321.

Препаративна процедура Z

Приклад 104

2-(Хінуклідин-3-іл)-N-(1-п-толільциклопропіл)-ацетамід

До розчину метил-2-(диметоксифосфорил)-ацетату (2,70 г, 14,8 ммоль) в THF (200 мл) при 0 °C додавали NaH [60 %-на дисперсія в мінеральному маслі] (600 мг, 15,0 ммоль). Після перемішування протягом 1 години додавали хінуклідин-3-он (2,00 г, 12,4 ммоль) і суміш, отриману в результаті цього, перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Реакцію гасили, додаючи 50 мл води при 0 °C, і суміш екстрагували EtOAc. Органічні шари об'єднували і концентрували при зниженому тиску, отримуючи неочищений метил-2-(хінуклідин-3-іліден)-ацетат, який без очищення використовували на наступній стадії (1,2 г, 70 %).

Суміш метил-2-(хінуклідин-3-іліден)-ацетату (70 мг, 0,38 ммоль) і Pd/C (100 мг, 20 % мас.) в EtOH (10 мл) перемішували в атмосфері H_2 (20 фунт/кв.дюйм, 1,4 атм.) при кімнатній температурі протягом 18 годин. Реакційний розчин фільтрували через целіт і фільтрат концентрували при зниженому тиску, отримуючи неочищений метил-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетат (60 мг, 85%), який використовували з очищенням на наступній стадії.

Суміш метил-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетату (1,1 г, 6,0 ммоль) і 50 мл концентрованої HCl [12 M] перемішували при 70 °C протягом 18 годин. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску, отримуючи неочищену 2-(хінуклідин-3-іл)-оцтову кислоту, яку без очищення використовували на наступній стадії (900 мг, 86 %).

Застосовуючи загальну процедуру I, з 2-(хінуклідин-3-іл)-оцтової кислоти (169 мг, 1,00 ммоль) і 1-п-толільциклопропанаміну (149 мг, 1,10 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (60 мг, 18%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,86 (с, 1H), 6,96-7,07 (м, 4H), 3,22-3,37 (м, 2H), 2,85-3,05 (м, 4H), 2,39-2,45 (м, 2H), 2,21 (с, 3H), 1,45-1,92 (м, 5H), 1,07-1,23 (м, 5H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 171,6, 139,8, 136,1, 129,2, 125,6, 52,1, 50,9, 46,5, 46,0, 39,2, 34,9, 30,8, 24,5, 21,1, 18,7, 17,6 м. ч. Чистота: 96,2 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,21 хв.; (M+1) 299.

Приклад 105

N-(2-(3-метоксифеніл)-пропан-2-іл)-2-(хінуклідин-3-іл)-ацетамід

Застосовуючи загальну процедуру I, з 2-(хінуклідин-3-іл)-оцтової кислоти (169 мг, 1,00 ммоль) і 2-(3-метоксифеніл)-пропан-2-аміну (182 мг, 1,10 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (126 мг, 40%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,39 (с, 1H), 7,20 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,92 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,87 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 6,71 (дд, $J=8,0$, 2,0 Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,31-3,42 (м, 2H), 3,00-3,19 (м, 4H), 2,47-2,60 (м, 2H), 2,27 (дд, $J=14,0$, 6,0 Гц,

1H), 1,83-2,06 (м, 4H), 1,64-1,74 (м, 1H), 1,61 (д, J=12,4 Гц, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 170,0, 159,7, 149,3, 129,5, 117,5, 111,8, 111,0, 55,9, 55,4, 52,0, 50,6, 46,6, 46,0, 39,7, 30,9, 29,7, 29,1, 24,3, 18,8 м. ч. Чистота: 93,7% HPLCMS (210 нм); час утримування 0,76 хв.; (M+1) 317.

Приклад 106

5 2-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-N-[1-(3-ізопропілфеніл)-1-метилетил]-ацетамід

До розчину 1-(1-ізоціанато-1-метилетил)-3-ізопропенілбензолу (10 г, 50 ммоль) в t-BuOH (1000 мл) додавали КОН (40,0 г, 71,6 ммоль). Суміш перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 3 годин. Суміш, отриману в результаті цього, охолоджували до кімнатної температури, концентрували і розчиняли в CH₂Cl₂. Твердий залишок відфільтровували і органічний шар доводили до pH <7, використовуючи концентровану HCl. Амонійну сіль екстрагували водою. Водний шар робили лужним, використовуючи водний розчин NaOH [5% мас., 200 мл] і потім метиленхлоридом екстрагували амін, перетворений у вільну основу. Органічні шари об'єднували, сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску, отримуючи 1-(3-ізопропенілфеніл)-1-метилетиламін (3,3 г, 63 %).

15 Розчин вищезгаданої сполуки (8,5 г, 48 ммоль) і PtO₂ (1,8 г, 8,0 ммоль) в EtOH (600 мл) перемішували при кімнатній температурі при 1 атм. H₂ протягом 18 годин. Реакційну суміш фільтрували через целіт і концентрували при зниженому тиску, отримуючи 1-(3-ізопропілфеніл)-1-метилетиламін (5,0 г, 58 %).

20 Застосовуючи загальну процедуру I, з (1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-оцтової кислоти (200 мг, 1,20 ммоль) і 1-(3-ізопропілфеніл)-1-метилетиламіну отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (42 мг, 10 %). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,15-1,20 (м, 3H), 7,05 (д, J=8,4 Гц, 1H), 3,41-3,45 (м, 1H), 3,26 (с, 2H), 3,15-3,22 (м, 2H), 2,71-2,82 (м, 2H), 2,41-2,47 (м, 3H), 2,05-2,12 (м, 1H), 1,79-1,90 (м, 4H), 1,61 (д, J=8,0 Гц, 6H), 1,21 (д, J=6,4 Гц, 6H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 171,1, 148,7, 147,3, 128,1, 123,9, 122,8, 122,2, 55,6, 52,1, 46,5, 45,9, 38,8, 34,5, 30,7, 28,9, 28,5, 23,8, 23,4, 18,0 м. ч. Чистота: 96,8 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,93 хв.; (M+1) 329.

Приклад 107

2-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)- N-[2-(2-метокси-феніл)-етил]-ацетамід

30 Застосовуючи загальну процедуру I, з (1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-оцтової кислоти (200 мг, 1,20 ммоль) і 2-(2-метоксифеніл)-етиламіну отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (60 мг, 15%). ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,17 (т, J=7,2 Гц, 1H), 7,08 (д, J=7,2 Гц, 1H), 6,89 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,84 (т, J=7,6 Гц, 1H), 3,89 (с, 3H), 3,35-3,45 (м, 3H), 3,21-3,31 (м, 3H), 2,76-2,83 (м, 3H), 2,29-2,45 (м, 3H), 1,82-2,01 (м, 3H), 1,72-1,81 (м, 2H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 172,0, 158,0, 130,4, 127,8, 127,2, 120,2, 110,4, 54,6, 52,0, 46,4, 45,9, 39,1, 38,3, 30,7, 30,2, 23,8, 17,9 м. ч. Чистота: 92,4 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,59 хв.; (M+1) 303.

Приклад 108

1-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-3-[1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіл]-сечовина

40 Суміш 3-ізопропілбензойної кислоти (5,00 г, 30,4 ммоль) в SOCl₂ (50 мл) перемішували при 100°C протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували, отримуючи 3-ізопропілбензоилхлорид (5,00 г, 91 %).

45 У розчин вищезгаданого хлорангідриду кислоти (5,00 г, 27,0 ммоль) в CH₂Cl₂ (20 мл) при -70 °C додавали по краплях розчин NH₃/CH₂Cl₂ (200 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і потім концентрували, отримуючи 3-ізопропілбензамід (4,2 г, 93 %).

Розчин вищезгаданого аміду (4,20 г, 25,7 ммоль) в POCl₃ (36,0 г, 236 ммоль) перемішували при 80 °C протягом 18 годин. Розчин концентрували і залишок виливали у воду (100 мл). Суміш екстрагували EtOAc. Органічні шари об'єднували, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували, отримуючи 3-ізопропілбензонітрил (3,00 г, 80 %).

50 Застосовуючи загальну процедуру G, 3-ізопропілбензонітрил (3,00 г, 20,6 ммоль) перетворювали у відповідний 1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіламін (0,80 г, 22 %).

55 Застосовуючи загальну процедуру C, з вищезгаданого аміну (300 мг, 1,71 ммоль), хінуклідин-3-аміну (215 мг, 1,71 ммоль) і CDI (290 мг, 2,05 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (88 мг, 46 %). ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,18 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,12 (с, 1H), 7,01 (дд, J=19,2, 7,6 Гц, 2H), 3,74-3,77 (м, 1H), 3,18-3,24 (м, 1H), 2,71-2,87 (м, 5H), 2,42-2,47 (м, 1H), 1,63-1,82 (м, 4H), 1,45 (шир. с, 1H), 1,21-1,26 (м, 10H) м. ч. ¹³C ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 193,0, 168,7, 160,1, 128,2, 122,7, 121,9, 55,3, 46,8, 46,1, 34,1, 25,9, 25,0, 23,5, 19,6, 18,2 м. ч. Чистота: 92,4% HPLCMS (210 нм); час утримування 2,53 хв.; (M+1) 328.

Приклад 109

60 2-(1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-ил)-N-[1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіл]-ацетамід

Застосовуючи загальну процедуру I, з 1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіламіну (278 мг, 1,58 ммоль) і (1-азабіцикло[2.2.2]окт-3-іл)-оцтової кислоти (267 мг, 1,58 ммоль) отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (70 мг, 14 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,16 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,07 (с, 1H), 6,97 (дд, $J=19,2$, 7,6 Гц, 2H), 3,16-3,23 (м, 1H), 2,79-2,97 (м, 5H), 2,51-2,58 (м, 1H), 2,23-2,41 (м, 3H), 1,83-1,92 (м, 1H), 1,68-1,81 (м, 3H), 1,54-1,62 (м, 1H), 1,15-1,25 (м, 10H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 173,6, 148,5, 142,4, 127,8, 123,6, 123,1, 122,0, 73,0, 53,1, 46,6, 45,9, 39,3, 34,1, 32,3, 28,1, 26,4, 24,4, 19,7, 16,8 м. ч. Чистота: 96,9 % HPLCMS (210 нм); час утримування 2,55 хв.; (M+1) 327.

Приклад 110

1-Азабіцикло[2.2.2]окт-3-иловий складний ефір [1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіл]-карбамінової кислоти

Застосовуючи загальну процедуру A, з 1-(3-ізопропілфеніл)-циклопропіламіну (278 мг, 1,58 ммоль) і хінуклідин-3-олу отримували сполуку, вказану в заголовку, у вигляді білої твердої речовини (75 мг, 22 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,17 (м, 1H), 7,09 (с, 1H), 6,97-7,08 (м, 2H), 4,72-4,79 (м, 1H), 3,36-3,42 (м, 1H), 2,79-3,08 (м, 5H), 1,93-2,17 (м, 2H), 1,81-1,90 (м, 1H), 1,67-1,78 (м, 2H), 1,31-1,54 (м, 1H), 1,13-1,28 (м, 10H) м. ч. ^{13}C ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 157,1, 148,4, 143,1, 128,1, 123,9, 123,0, 122,4, 69,2, 54,4, 46,7, 45,7, 34,7, 34,3, 24,9, 23,3, 22,0, 18,0, 17,3 м. ч. Чистота: 99,2 % HPLCMS (210 нм); час утримування 1,83 хв.; (M+1) 329.

Приклад 111

Дослідження ефективності терапії малими молекулами із застосуванням (S)-2-гідроксисукцинатної солі (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамату, проведені *in vivo* на моделі хвороби Фабрі у мишей

У даному розділі описані експерименти, проведені *in vivo* з використанням інгібітору GCS на моделі хвороби Фабрі у мишей, які демонструють, що субстрат-редуюча терапія (SRT) однаково ефективна відносно зниження рівнів як Gb3, так і лізо-Gb3 в плазмі, нирці і сечі мишей з хворобою Фабрі. Дане дослідження було розроблене для того, щоб оцінити, чи може інгібування утворення субстрату (тобто "субстрат-редуюча терапія"), здійснюване із застосуванням типів сполук згідно з даним винаходом, зменшувати акумулювання матеріалу, що накопичується у вигляді глоботриаозилцераміду (Gb3) і лізоглоботриаозилцераміду (лізо-Gb3). Нещодавно було висловлене припущення, що лізо-Gb3 в сечі може служити надійним біологічним маркером, клінічно значущим для хвороби Фабрі (Aerts et al., PNAS USA 105: 2812-2817 (2008); і Auray-Blais et al., Clin Chim Acta 411: 1906-1914 (2010)). Метаболічне походження лізо-Gb3 невідоме, можливо, він утворюється або за допомогою деацилювання Gb3, або шляхом анаболічного синтезу з глюкозилсфінгозину.

На Фіг. 1 чорні стрілки позначають продемонстровані шляхи, а сірі стрілки - шляхи недокументовані. Як відомо, ферментозамісна терапія з використанням α -галактозидази А руйнує як Gb3, так і лізо-Gb3. Відповідно, субстрат-редуюча терапія з використанням інгібітору GCS була б найбільш ефективною відносно обмеження накопичення лізо-Gb3, якщо лізо-Gb3 утворюється переважно за допомогою деацилювання Gb3, тобто по GCS-залежному шляху. Ці експерименти демонструють, що субстрат-редуюча терапія, що використовує інгібітори GCS, знижує і Gb3, і лізо-Gb3 у мишей з моделлю хвороби Фабрі, тим самим свідчаючи на користь застосування сполук згідно з даним винаходом як ефективних терапевтичних варіантів для пацієнтів з хворобою Фабрі.

У наступних експериментах миші отримували дози інгібіторів GCS, що складали або ~60 мг/кг/день для (S)-2-гідроксисукцинатної солі (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)-пропан-2-іл)-карбамату (далі "GZ 452"), або ~300 мг/кг/день для солі L-винної кислоти з [2-(2', 3'-дигідробензо[1,4]дикосин-6'-іл)-2-гідрокси-1-піролідин-1-ілметилетил]-амідом (1R, 2R)-октанової кислоти (далі «GZ 638»), у вигляді компонента вільно доступного гранульованого корму. Аналіз ліпідів проводили за допомогою ESI/MS, як описано у Marshall et al., PLoS ONE 5:e15033 (2010). Як більш детально обговорюється нижче, лікування починали, коли вік мишей становив 3, 8 або 12 місяців (для випробування ефективності при різній тяжкості захворювання). Кров і сечу збирали щомісяця, періодичний відбір зразків тканин надавав матеріал для оцінки ефективності терапії (по рівнях Gb3 і лізо-Gb3). Попередні дослідження показали, що інгібітори глюкозилцерамід-синтази більш раннього покоління (класу, подібного до P4) могли стримувати накопичення Gb3; однак, як обговорюється нижче, лікування із застосуванням Genz-452 було здатне не тільки запобігати або стримувати подальше накопичення, але і ефективно знижувати абсолютні рівні Gb3 і лізо-Gb3 в досліджених тканинах (в печінці, серці, сечі, плазмі). Як додатково обговорюється нижче, ефективність терапії малими молекулами залежить від віку мишей на початку лікування. Як правило, чим старша миша, тим вищі рівні накопиченого Gb3 і,

таким чином, тим більше тривале лікування потрібне для того, щоб викликати однаковий терапевтичний ефект (див. Фіг. 4). Експерименти і результати додатково описані нижче.

Інгібітор GCS знижує рівні Gb3 в тканинах внутрішніх органів мишей з хворобою Фабрі

У цьому експерименті мишей з хворобою Фабрі лікували інгібіторами GCS, доданими в їх корм, протягом 4 місяців, починаючи з 8-місячного віку. Автори даного винаходу раніше вже повідомляли, що тартрат елігустату (GZ 638) в дозі 300 мг/кг/день (SRT GZ 638) ефективний відносно інгібування подальшого накопичення Gb3 в тканині, про що в даному експерименті свідчить відсутність значущих змін Gb3 відносно початкових рівнів (на діаграмі визначено як "НЛ (початок)"). Як показано на Фіг. 3 (експеримент SRT-Gz452), був перевірений і більш сильний інгібітор GCS (сполука GZ 452 в дозі 60 мг/кг/день), який, як було знайдено, не тільки запобігав подальшому накопиченню, але і значно знижував вже накопичений Gb3 відносно початкових рівнів ("НЛ (початок)"). Показані і його рівні у мишей дикого типу (ДТ) того ж віку. Ці результати демонструють, що GZ 638 є сильним інгібітором GCS і ефективно знижує рівні Gb3 в тканинах внутрішніх органів мишей з хворобою Фабрі.

Субстрат-редукуюча терапія знижує рівні Gb3 в сечі і плазмі молодих і старих мишей з хворобою Фабрі

У цьому експерименті мишей з хворобою Фабрі лікували сполукою GZ 452 в кормі (Rx:) протягом 2 або 4 місяців, починаючи з віку 3 або 8 місяців (Вік:), як указано на Фіг. 4А і 4В. Рівні Gb3 в сечі більш молодих і більш старих мишей були однаково чутливі до впливу субстрат-редукуючої терапії, досягаючи приблизно 90 %-ного зниження після 2 місяців лікування. Рівні Gb3 в плазмі відповідали на лікування більш повільно, причому для ~50 %-ного зниження цього рівня у більш старих мишей було потрібне більш тривале лікування, ніж у молодих (4 і 2 місяці, відповідно). Ці результати демонструють, що GZ 638 ефективно знижує рівні Gb3 в сечі і плазмі молодих і старих мишей з хворобою Фабрі.

Субстрат-редукуюча терапія знижує рівні Gb3 і лізо-Gb3 в нирці миші з хворобою Фабрі

У цьому експерименті мишей з хворобою Фабрі лікували сполукою Genz-452, доданою в їх корм, протягом 4 місяців, починаючи з 8-місячного віку. Як показано на Фіг. 5, тканину нирки аналізували на вміст (А) Gb3 і (В) лізо-Gb3 у мишей, які не піддавались лікуванню (НЛ), у мишей з хворобою Фабрі, яких лікували сполукою GZ 452 (SRT), і у контрольних мишей дикого типу (ДТ). Результатом проведення SRT було значуще в однаковій мірі зниження рівнів як Gb3, так і лізо-Gb3 (60-70 %). Ці результати демонструють, що GZ 638 ефективно знижує рівні Gb3 і лізо-Gb3 в нирках мишей з хворобою Фабрі.

Приклад 112

Дослідження ефективності комбінованої терапії із застосуванням GZ 452 і альфа-галактозидази А, проведені in vivo на моделі хвороби Фабрі у мишей

Мишей з хворобою Фабрі використовували для випробувань ефективності поєднання ферментозамісної терапії з терапією малими молекулами, проведених in vivo в паралельному форматі. Дане дослідження було розроблене для того, щоб оцінити, чи може інгібування субстрату (тобто "субстрат-редукуюча терапія" із застосуванням сполуки GZ 452) зменшити повторне накопичення матеріалу Gb3 і лізо-Gb3, що зберігається. Протокол дослідження включав в себе три групи мишей 3-місячного віку з хворобою Фабрі, яких лікували різними способами (Фіг. 6А). Перша група отримувала внутрішньовенні ін'єкції ферменту альфа-галактозидази А (ERT) в дозі 1 мг/кг для зниження рівнів Gb3, що повторювалися кожні 2 місяці. Друга група отримувала такі ж ін'єкції ферменту, як і група 1, але одночасно вона з гранульованим кормом отримувала і сполуку GZ 452 в дозі, що складала приблизно 60 мг/кг/день. Третя група отримувала тільки щоденні дози GZ 452 в своєму кормі. Четверта група не отримувала ніякого лікування і служила плацебо-контролем, а п'ята група (тварини дикого типу) надавала "нормальні" значення Gb3 і лізо-Gb3. Місячні колекції сечі і крові і три місячних зразки тканин надавали матеріали для оцінки відносної ефективності терапії (Фіг. 6А).

Через 2 місяці (вік мишей становив 5 місяців) плазму (Фіг. 6В, діаграми А і С) і сечу (Фіг. 6В, діаграми В і D) аналізували на Gb3 (Фіг. 6В, діаграми А і В) і лізо-Gb3 (Фіг. 6В, діаграми С і D). У плазмі ERT і SRT знижували рівні і Gb3 (діаграма А), і лізо-Gb3 (діаграма С), а результатом поєднання ERT і SRT були значні поліпшення в порівнянні з кожним з цих способів лікування, що проводилися окремо. ERT не впливала на рівні Gb3 в сечі, які, однак, значно знижувалися під впливом SRT (діаграма В). Всі види терапії приблизно однаково знижували рівень лізо-Gb3 в сечі (діаграма D), на основі чого можна передбачити, що Gb3 і лізо-Gb3, присутні в сечі, можуть походити з різних джерел. Результати цих досліджень показують, що SMT була ефективною відносно зниження рівня Gb3 в нирках і сечі. ERT була більш ефективною, ніж SMT, відносно зниження рівня Gb3 в плазмі, однак найбільш ефективним було лікування, що поєднувало

обидва способи терапії. Як монотерапія SMT, так і її комбінація з ERT, були здатні впливати на рівень лізо-Gb3 (зменшуючи його накопичення).

Приклад 113

Профіль ізоформ ацильного ланцюга Gb3

Відносний вміст амідно зв'язаних ацильних груп з різною довжиною вуглецевого ланцюга визначали для Gb3 з плазми, сечі і нирок мишей з хворобою Фабрі. Як показано на Фіг. 7, в плазмі головними ізоформами були C16:0 і C24:1. Профілі ізоформ в сечі і нирках були майже однаковими, причому переважали ланцюги з довжиною C24:0 і C22:0. Ці дані узгоджуються з уявленням про те, що Gb3, присутній в сечі, походить переважно з нирок - ймовірно, внаслідок епідермального екзосомального відділення. Наявність кореляції між цими результатами і результатами, представленими на Фіг. 6, де ERT знижувала рівень лізо-Gb3 в плазмі і сечі, але не впливала на рівень Gb3 в сечі, дозволяє передбачити, що лізо-Gb3, присутній в сечі, походить з фільтрату плазми. Ця відмінність джерел Gb3 і лізо-Gb3, присутніх в сечі, якщо вона справедлива і для пацієнтів, може пояснити, чому лізо-Gb3 вважають більш точним предиктором тяжкості захворювання і ефективності лікування, ніж Gb3 в сечі.

Приклад 114

SRT, але не ERT, значно зсуває на більш пізній термін втрату термічної ноцицептивної реакції

Мишей 3-місячного віку з хворобою Фабрі лікували сполукою GZ 452, що вводиться з їх кормом (SRT), α -галактозидазою, що вводиться кожні 2 місяці (ERT), або комбінацією двох цих способів терапії (E+S), як описано вище. Після 6 місяців комбінованої терапії оцінювали час (латентність) термічної ноцицептивної реакції, вміщуючи мишей на гарячу плиту з температурою 55 °C і записуючи час до вияву реакції (чітко видиме відсмикувати задньої лапи). Як показано на Фіг. 8, після 7 місяців лікування (10-місячних мишей) група, в якій проводили ферментозамісну монотерапію, значно відрізнялася від групи, що не піддавалася ніякому лікуванню (НЛ). Групи, що отримували лікування у вигляді субстрат-редуючої монотерапії або у вигляді комбінованої терапії, мали значно більш короткі часи вияву реакції на термічний подразник. Ці результати демонструють, що SRT (але не ERT) зсуває на більш пізній термін втрату термічної ноцицептивної реакції, сурогатного маркера периферичної невропатії, що часто спостерігається у пацієнтів з хворобою Фабрі.

Приклад 115

Модель nGD у мишей для досліджень SMT, що проводяться in vivo із застосуванням Gz161

Мишей K14 Inl/Inl (скорочено K14) отримували з Lund University (Enquist et al. (2007)) і розводили згідно з протоколом, схваленим Institutional Animal Care and Use Committee. Дитинчатом, отриманим при гетерозиготному спаровуванні, надрізали хвости і проводили генотипування в перший день після народження (P1). ДНК екстрагували, використовуючи буфер лізису, що містив 5 mM EDTA, 0,2 % SDS, 200 mM NaCl, 100 mM Tris pH 8,0 з додаванням 0,25 мг/мл протеїнази K (Invitrogen, Carlsbad, California), осаджували 100%-ним ізопропанолом і повторно розчиняли в буфері 1X Tris-EDTA. Цю ДНК потім використовували в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) для виявлення присутності гена GC з промотором кератину K14 (CRE) (Enquist et al. (2007)). Щоб виявити пошкодження сайту резистентності до неоміцину в гені мишачої глюкоцереб्रोїдази (NEO) автори даного винаходу використовували методику з трьома праймерами: GC WT Fwd 5'-TGTTCCCCAACACAATGCTCTTT-3'; Rev 5'-TCTGTGACTCTGATGCCACCTTG-3' і Neo Rev 5'-AAGACAGAATAAACGACGCG GTG-3', як описано раніше в публікації Cabrera-Salazar et al., Experimental Neurology 225: 436-444 (2010).

Новонароджені миші отримували щодня внутрішньоочеревинні ін'єкції хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)-пропан-2-іл)-карбамату (далі "GZ 161") в дозі 5 мг/кг, розчинений в об'ємі, взятому з розрахунку 10 мкл на грам маси тіла, починаючи з четвертого дня після народження. Мишей K14 і мишей дикого типу того ж віку евтаназували на 10-й день після народження (до появи симптомів) і у віці 14 днів (гуманна кінцева точка) для оцінки рівнів глікосфінголіпідів (GSL). Мишам вводили пентобарбітал (Euthasol, Virbac Inc, Forth Worth, TX) в дозі 150 мг/кг і проводили транскардіальну перфузію холодним 0,9 %-ним розчином NaCl. Витягували і розділяли мозок; одну півкулю використовували для аналізу на GSL, а іншу фіксували в 4 %-ному параформальдегіді протягом 96 годин і обробляли для гістології.

Щоб визначити, чи можливе досягнення додаткових сприятливих ефектів за допомогою пренатального впливу GZ 161, підгрупі вагітних самиць K14 його вводили з кормом, складеним таким чином, щоб протягом останніх 5-7 днів вагітності добова доза GZ 161 становила 20 мг/кг. Після пологів самиці, що отримували GZ 161, переводилися на стандартну дієту, а дитинчата отримували щоденні внутрішньоочеревинні ін'єкції GZ 161 в дозі 5 мг/кг (10 мкл на грам маси тіла), починаючи з дня P1. Групу дитинчат дикого типу, народжених самицями, що отримували

лікарський засіб або стандартну рецептуру, умертвляли відразу після народження, щоб визначити, чи не міг внутрішньоутробний вплив GZ 161 знизити рівні GSL в мозку.

Приклад 116

Кількісне визначення глікосфінголіпідів

- 5 Кількісний аналіз на сфінголіпіди проводили за допомогою рідинної хроматографії і танDEMної мас-спектрометрії (LC/MS/MS), як було описано раніше у Merrill et al., Methods 36: 207-224 (2005). В короткому викладі: 10 мкл гомогенату тканини мозку (маса тканини/води: 100 мг/мл) екстрагували 1,00 мл суміші органічних розчинників (97 % ацетонітрилу, 2 % метанолу і 1 % оцтової кислоти по об'єму) і інтенсивно перемішували на вортекс-міксері протягом 10 хв.
- 10 Екстраговані сфінголіпіди (GluCer і GluSph) розділяли прямим чином за допомогою гідрофільної рідинної хроматографії (колонка Atlantis HILIC, Waters Corp.) і аналізували за допомогою потрійної квадрупольної танDEMної мас-спектрометрії (API 4000, Applied Biosystems/MDS SCIEX), порівнюючи зі стандартами сфінголіпідів (Matreya, LLC; Pleasant Gap, PA).

15 Приклад 117

Переробка рецептури препарату рекомбінантної людської глікоцереброзидази

- Рецептуру препарату людської глікоцереброзидази (rhGC) переробляли, як описано раніше у Cabrera-Salazar et al. (2010). У короткому викладі: rhGC зв'язували з використанням катіонного обміну (CM Sepharose) і в елюат додавали людський сироватковий альбумін (HSA) як стабілізатор. Рецептура для ICV-введення: 2 мг/мл rhGC в 10 мМ натрій-фосфатному буфері при pH 7,2, що містить 135 мМ хлориду натрію, 5 мг/мл HSA і 0,01% полісорбату 80.
- 20

Приклад 118

Інтрацеребровентрикулярні ін'єкції

- Тварині з моделлю невропатичної хвороби Гоше (nGD), ідентифікованій як K14, проводили кріоанестезію і виконували двосторонні інтрацеребровентрикулярні (ICV) ін'єкції 2 мкл rhGC (2 мг/мл) або плацебо, як описано раніше (Cabrera-Salazar et al. (2010)). Після цієї процедури ін'єктованих дитинчат спостерігали до повернення в звичайний стан і повертали матерям.
- 25

Приклад 119

Гістопатологія

- 30 Після підтвердження генотипу тварин евтаназували у віці 10 днів. У цьому віці миші K14 були безсимптомними. Мишам робили внутрішньоочеревинну ін'єкцію 150 мг/кг пентобарбіталу натрію (Euthasol, Virbac Inc, Forth Worth, TX) і інтракардіальну перфузію охолодженням 0,9 %-ним хлоридом натрію. Мозок витягували і фіксували в 4 %-ному параформальдегіді протягом 72 годин. Тканину переносили в PBS і заливали парафіном. Робили сагітальні зрізи товщиною 5 мкм, які забарвлювали, як описано нижче. Гліоз і присутність клітин макрофагальної лінії оцінювали по фарбуванню гліального фібрилярного кислого протеїну, а для виявлення експресії панмакрофагальних маркерів CD68 і F4/80 використовували систему імунохімічних барвників Leica Bond Max (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).
- 35

- 40 Фарбування GFAP: Парафінові зрізи вміщували на предметне скло і обробляли, використовуючи систему Bond Polymer Refine IHC system (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) блокували протягом 10 хвилин в безсироватковому білковому блоці (Dako systems, Glostrup, Denmark), інкубували протягом 30 хвилин з первинними антитілами, специфічними до GFAP, розведеними у відношенні 1:1500 в Dako antibody diluent (Dako, Glostrup, Denmark), і забарвлювали, використовуючи Bond Polymer Refine detection kit (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).
- 45

- Фарбування F4/80: Парафінові зрізи вміщували на предметне скло і обробляли, використовуючи систему Bond Polymer Refine IHC system (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), інкубували протягом 30 хвилин з щурячими антитілами, специфічними до мишачого F4/80 (eBioscience, San Diego, CA), в розбавленні 1:2500 або з щурячим IgG2a (eBioscience, San Diego, CA) як контроль ізотипу. Після цього зрізи інкубували з вторинними кролячими антитілами проти імуноглобулінів щура (Vector laboratories, Burlingame, CA) в розбавленні 1:250 і забарвлювали, використовуючи Bond Polymer Refine detection kit (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).
- 50

- 55 Фарбування CD 68: Парафінові зрізи вміщували на предметне скло і обробляли, використовуючи систему Bond Polymer Refine IHC system (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), інкубували протягом 30 хвилин з щурячими антитілами антитілами клона FA-11, специфічними до мишачого CD68 (AbD Serotec, Oxford, UK), в розбавленні 1:2500 або зі щурячим IgG2a для контролю ізотипу (AbD Serotec, Oxford, UK). Потім зрізи інкубували з вторинними кролячими антитілами проти імуноглобулінів щура (Vector laboratories, Burlingame,

CA) в розбавленні 1:250 і забарвлювали, використовуючи Bond Polymer Refine detection kit (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany).

Для кожної техніки фарбування, використовуючи систему Aperio ScanScope XT (Aperio Technologies, Vista, CA), в кожній експериментальній групі отримували вирівняні по експозиції цифрові зображення схожих ділянок мозку. Забарвлені зрізи оцифровували з високим розділенням і на кожному зрізі виділяли по шість ділянок, що викликають інтерес, які незалежно аналізували гістоморфометрично. Визначали позитивно забарвлені ділянки і ядра, аналізуючи кількісні дані по методиці однофакторного дисперсійного аналізу з подальшим множинним порівнянням по критерію Тьюкі, використовуючи Graph Pad Prism V 4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Відмінності між груповими середніми вважали достовірними при $p < 0,05$.

Приклад 119

Вживаність

Миші K14 отримували щоденні внутрішньоочеревинні ін'єкції GZ 161 в дозі 5 мг/кг маси тіла, як описано вище. Окрема група тварин отримувала також інтрацеребровентрикулярні ін'єкції GC в перший, другий і третій дні після народження, після яких йшли щоденні внутрішньоочеревинні ін'єкції GZ 161. Тварини, що досягли віку відлучення, отримували GZ 161 в спеціальному кормі, приготованому так, щоб надавати дозу 60 мг/кг/день.

Всі тварини знаходилися під щоденним спостереженням для виявлення розвитку неврологічних ускладнень. Мишей евтаназували, коли вони досягали гуманної кінцевої точки (коли вони протягом 10 секунд не можуть самостійно виправити положення тіла після примусового повороту на бік), ін'єктуючи пентобарбітал натрію в дозі 150 мг/кг (Euthasol, Virbac Inc, Forth Worth, TX). Цей момент часу реєстрували як кінець життя, який використовували в аналізі з графіками Каплана-Мейєра.

Приклад 120

Статистичний аналіз

Значення, показані в цьому документі, відповідають середнім величинам, а приведені планки погрешностей представляють стандартну помилку середнього. Для порівняння груп застосовували однофакторний дисперсійний аналіз з подальшим множинним порівнянням по критерію Тьюкі. Для порівняння даних про внутрішньоутробне зменшення субстрату проводили аналіз по двовибірковому t-критерію для незалежних вибірок з поправкою Уелча. Криві виживаності по Каплану-Мейєру аналізували, застосовуючи логарифмічний ранговий критерій, еквівалентний критерію Мантеля-Гензеля. Всі статистичні аналізи проводили, використовуючи Graph Pad Prism v4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Відмінності між груповими середніми вважали достовірними при $p < 0,05$.

Приклад 121

Накопичення субстрату в мозку миші K14

Перш ніж проводити оцінку ефектів, що надаються на ліпіди мозку, автори даного винаходу порівнювали залежні від часу зміни рівнів GluCer, GalCer і GluSph в мозку мишей K14 з їх рівнями в мозку контрольних мишей дикого типу. Діаграми A і B Фігури 9 показують, що в мозку мишей дикого типу протягом декількох перших днів життя переважаючим ізомером GL-1 був GluCer; до 14-го постнатального дня (P14) переважаючим ізомером ставав GalCer. Ці результати узгоджуються з результатами дослідження мозку щура, в яких було виявлено, що GluCer синтезується в більшій мірі протягом першого тижня життя, а потім, починаючи з дня P8, йде підвищений синтез GalCer (Brenkert et al., Brain Research 36: 183-193 (1972)). Діаграма A Фігури 9 також показує, що GluCer у мишей K14 підвищений в 10 разів в порівнянні з мишами дикого типу і що це підвищення зберігалось протягом перших двох тижнів життя аж до загибелі мишей на день P14.

У згоді з колишніми моделями невропатичної хвороби Гоше у мишей (Liu et al., PNAS 95: 2503-2508 (1998)), діаграма C Фігури 9 показує, що у мишей K14 в момент народження лізоглікосфінголіпід GluSph був підвищений більше ніж в 20 разів в порівнянні з мишами дикого типу. Це підвищення зберігалось протягом перших двох тижнів життя і було навіть більш високим у тварин, евтаназованих на кінцевій стадії (Фіг. 9, діаграма C). У мишей дикого типу, відповідних за віком мишам K14, рівні GluSph були нижчими порогу детектування (0,3 нг/мг тканини). Діаграма D Фігури 9 показує, що ці підвищені глікосфінголіпіди і лізоглікосфінголіпіди у мишей K14, ймовірно, не впливають на масу мозку (в порівнянні з мозком мишей дикого типу). Враховуючи відому токсичність GluSph, потрібно очікувати, що терапевтичні стратегії, направлені на зниження накопичення цих субстратів в мозку мишей K14, можуть впливати і на особливості патології даного захворювання, і на тривалість життя цих тварин.

Приклад 122

Внутрішньоочеревинне введення GZ 161 знижує рівні GluCer і GluSph в мозку мишей K14

Фігура 10 показує, що в порівнянні з мишами K14, яким вводили плацебо, щоденне внутрішньоочеревинне введення сполуки GZ 161 більше ніж на 60% знижувало мозкові рівні GluCer і GluSph, що вимірюються в гуманній кінцевій точці (тобто у віці 14-15 днів). Миші K14, яких лікували сполукою GZ 161, в цей час були безсимптомними. І хоч введення GZ 161 значно знижувало рівні цих глікосфінголіпідів, Фіг. 10 показує, що вони, проте, залишалися в декілька разів більш високими, ніж у мишей дикого типу того ж віку; в проаналізованих зразках, отриманих від мишей дикого типу або гетерозиготних особин того ж віку, GluSph не детектувався. Зниження мозкових глікосфінголіпідів, зумовлене системним введенням лікарського засобу, є вагомим свідченням того, що сполука GZ 161 здатна як проникати через ГЕБ, так і інгібувати свій цільовий фермент (GCS).

Приклад 123

Внутрішньоочеревинне введення Gz 161 зменшує фарбування мікроглії/макрофагів по всьому мозку мишей K14

Клітини мієлоїдної лінії можна детектувати в мишачому мозку, використовуючи антитіла до таких антигенів, як F4/80 і CD68. F4/80 являє собою трансмембранний глікопротеїн, знайдений на розгалуженій (що покоїться) мікроглії і макрофагах, а CD68 є лізосомним білком, експресованим на відносно високих рівнях в макрофагах і активованій (реактивній) мікроглії і на більш низьких рівнях в розгалуженій мікроглії. Збільшене фарбування F4/80 і CD68 в мозку може з'являтися при рекрутуванні моноцитів або при мікрогліальній проліферації, воно є нормальною реакцією на травму і запалення. Фіг. 11 якісно і кількісно показує, що, в порівнянні з мишами дикого типу в 10-денному віці (P10), в багатьох ділянках мозку мишей K14 підвищена чисельність CD68-позитивних клітин (в гіпокампі, таламусі, стовбурі мозку, мозочку). Найвища концентрація CD68-позитивних клітин виявлена в таламусі і стовбурі мозку - двох відділах мозку, патологічність яких спостерігається і у пацієнтів з хворобою Гоше типу 2. (Conradi et al., *Acta Neuropathologica* 65: 99-109 (1984); Conradi et al., *Acta Neuropathologica* 82: 152-157 (1991); і Wong et al., *Molecular Genetics and Metabolism* 82: 192-207 (2004)). Фіг. 11 також показує, що системне введення GZ 161 зменшує чисельність CD68-позитивних клітин у всіх цих відділах; лікування також зменшувало чисельність CD68-позитивних клітин в нюховій цибуліні і лобовій корі (дані не показані). У згоді з даними про гістопатологію CD68, Фіг. 12 показує підвищене фарбування F4/80 у мишей K14, що отримували плацебо, що спостерігається на день P10, в порівнянні з тваринами дикого типу. Щоденні внутрішньоочеревинні ін'єкції GZ 161 зменшували чисельність F4/80-позитивних клітин в таламусі і стовбурі мозку, але майже не впливали на їх чисельність в інших ділянках мозку. У сукупності з даними по CD68, ці результати свідчать про те, що результатом системного лікування мишей K14 сполукою GZ 161 є знижена чисельність макрофагів/мікроглії в багатьох відділах мозку.

Приклад 124

Внутрішньоочеревинне введення GZ 161 зменшує гліоз в декількох відділах мозку мишей K14

У відповідь на запалення і пошкодження або загибель нейронів може мати місце гіпертрофія або проліферація астроцитів - процес, відомий як астрогліоз. Гліальний фібрилярний кислий протеїн (GFAP) є білком проміжних філаментів, який дуже сильно експресований в активованих (реактивних) астроцитах, і тому його можна використовувати для моніторингу астрогліозу. Фіг. 13 показує, що на день P10 фарбування GFAP в декількох відділах мозку щура K14 (в гіпокампі, таламусі, стовбурі мозку, мозочку) було більш значним, ніж у тварин дикого типу, що свідчить про присутність реактивних астроцитів. Фіг. 13 також показує, що системне лікування мишей K14 сполукою GZ 161 приводило до зменшеного фарбування GFAP в гіпокампі і мозочку на день P10; фарбування було зниженим і в нюховій цибуліні і лобовій корі (дані не показані). Таким чином, ці результати, що стосуються GFAP, узгоджуються з вищеописаними даними по макрофагах/мікроглії, які демонструють, що у мишей K14, ймовірно, є поточний запальний процес, який можна до деякої міри ослабити системним введенням GZ 161.

Приклад 125

Внутрішньоочеревинне введення GZ 161 збільшує виживаність мишей K14

Враховуючи позитивні ефекти лікування сполукою GZ 161 на глікосфінголіпіди і гістопатологію мозку, автори даного винаходу зацікавилися, чи не можуть ці ефекти підвищити і виживаність мишей K14. Фіг. 14 демонструє, що миші K14, яким давали плацебо, мали медіану тривалості життя, яка дорівнює 15 дням, що узгоджується з колишніми результатами авторів даного винаходу, отриманими з цією моделлю у мишей (Cabrera-Salazar et al. (2010)). Результатом системного (внутрішньоочеревинного) введення мишам K14 сполуки GZ 161 було

збільшення медіани тривалості життя до 18 днів ($p < 0,0001$), що узгоджується зі сприятливими молекулярними і клітинними ефектами цього лікарського засобу в мозку, показаними вище.

У більш ранніх експериментах з мишами K14 було показано, що інтрацеребровентрикулярні ін'єкції GC новонародженим (P1-P3) могли навіть ще більше збільшити медіану виживаності (до 23 днів) (Cabrera-Salazar et al. (2010)). Оскільки і GC, і GZ 161 мають здатність знижувати рівні одного і того ж глікосфінголіпіду, GluCer (GC - руйнуючи GluCer; GZ 161 - інгібуючи його синтез), автори даного винаходу задалися ще і питанням, чи не може комбінація Gz161 і інтрацеребровентрикулярного (ICV) введення GC виявитися більш сприятливою відносно виживаності, ніж індивідуальне застосування кожного з цих засобів. Фіг. 14 демонструє, що результатом комбінування інтрацеребровентрикулярного введення GC (в дні P1, 2, 3) зі щоденним внутрішньоочеревинним введенням Gz161 була медіана виживаності, яка дорівнює 26 дням, що значно більше, ніж при застосуванні тільки GZ 161 або тільки інтрацеребровентрикулярної GC ($p = 0,0007$). Таким чином, системне введення GZ 161, ймовірно, є адитивним з інтрацеребровентрикулярною GC і надає додатковий сприятливий ефект відносно виживаності.

Приклад 126

Пренатальне введення GZ 161 не здатне збільшити виживаність мишей K14

Оскільки було виявлено, що на день P10 рівні GluSph в мозку миші K14 підвищені щонайменше в 10 разів і оскільки були отримані документальні свідчення того, що GluSph підвищений в мозку мишей і людей з nGD навіть ще до їх народження (Orvisky et al., *Pediatric Research* 48: 233-237 (2000)), було проведено дослідження можливості сприятливої зміни виживаності при внутрішньоутробному впливі GZ 161 на мишей K14. Фіг. 15 показує, що введення GZ 161 вагітним самицям мишей дикого типу приводило приблизно до 5-кратного зниження рівнів GluCer в мозку новонароджених мишей (P0), свідчаючи про здатність GZ 161 проникати через гематоплацентарний бар'єр. Однак введення GZ 161 вагітним самицям мишей K14 і подальше внутрішньоочеревинне введення GZ 161 народженим дитинчатам виявилось нездатним збільшити виживаність більше того, що спостерігається у мишей, які системно отримували GZ 161 тільки постнатально (18 днів) (Фіг. 14 і 16). Таким чином, ці дані узгоджуються з результатами, описаними на Фіг. 14, і означають, що хоч GZ 161 знижує глікосфінголіпіди і ослаблює патологію нервової системи, поточний режим лікування є недостатнім для захисту ЦНС. Ці результати узгоджуються і з колишніми результатами авторів даного винаходу, отриманими в цій моделі із застосуванням інтрацеребровентрикулярних ін'єкцій рекомбінантної людської глюкоцереброзидази (Cabrera-Salazar et al. (2010)), і разом з ними свідчать про те, що для подальшого поліпшення виживаності вимагається більш сильне і безперервне зниження глікосфінголілідів, таких як GluCer.

Ці дані показують якісно і кількісно, що системне (внутрішньоочеревинне) введення GZ 161 новонародженим мишам K14 значно знижує субстратне навантаження, ослаблює патологічні симптоми захворювання і збільшує медіану тривалості життя. При поєднанні з інтрацеребровентрикулярною доставкою rhGC системне введення GZ 161 приводить до адитивного збільшення тривалості життя, свідчаючи про те, що таке поєднання могло б бути більш ефективним у пацієнтів з nGD, що кожний спосіб монотерапії, що проводиться окремо. З урахуванням того, що на основі цих досліджень можна зробити висновок, що GZ 161, ймовірно, може проникати через ГЕБ і інгібувати свій цільовий фермент (глюкозилцерамід-синтазу), розумно передбачити, що цю молекулу можна також застосовувати і для лікування інших хвороб лізосомного накопичення, зумовлених накопиченням субстратів, які метаболічно йдуть за GluCer.

Важливо зазначити, що в дослідженнях, які проводяться, сполуку GZ 161 вводили мишам K14 в межах часового інтервалу, в якому GluCer і GluSph продукувались в мозку миші, що розвивається на відносно високих рівнях в порівнянні з мишами дикого типу (Фіг. 9; Brenkert et al., 1972). Щоденне внутрішньоочеревинне введення GZ 161 успішно знижувало, але не нормалізувало рівні GluCer і GluSph в мозку мишей K14 (Фіг. 10). Є декілька свідчень того, що GluSph і інші лізосфінголіпіди, такі як галактозилсфінгозин, можуть вносити свій внесок в патологію ЦНС, ініціюючи продукування запальних медіаторів - див. Giri et al., *Journal of lipid research* 47: 1478-1492 (2006) і Gräler et al., *Molecular and Cell Biology of Lipids* 1582: 168-174 (2002). Здатність GZ 161 знижувати рівні GluSph і одночасно зменшувати фарбування макрофагів/мікроглії і астроцитів (Фіг. 11-13) узгоджується з цією гіпотезою. Оскільки GluSph має відомі нейротоксичні властивості (Schueler et al., *Neurobiology of Disease* 14: 595-601 (2003); Orvisky et al., *Molecular Genetics and Metabolism* 76: 262-270 (2002); Sun et al., *Hum Mol Genet* 19: 1088-1097 (2010); і Pelled et al., *Journal of Inherited Metabolic Disease* 23: 175-184 (2000)), нездатність терапії із застосуванням GZ 161 нормалізувати рівні GluSph узгоджується з

уявленням про GluSph як про можливий діючий чинник, сприяючий ранній смерті, характерній для цієї моделі.

У сукупності, передклінічні результати, отримані в даній роботі на моделі у мишей K14, свідчать про те, що введення GZ 161 може стримувати прогресивний перебіг захворювання і розвиток неврологічних симптомів у пацієнтів з хворобою Гоше типу 2 і типу 3. Однак важко прогнозувати можливу користь від таких терапевтичних підходів у пацієнтів з симптоматикою типу 2, оскільки відомо, що їх мозок містить дуже високі рівні GluSph, що виникли ще в пренатальному житті. Goker-Alpan et al., The Journal of Pediatrics 143: 273-276 (2003). Хвороба Гоше типу 3 може бути більш чутливою до лікування, оскільки в цьому випадку рівні GluSph в мозку є більш низькими (Nilsson, J Neurochem 39: 709-718 (1982)), а прогресивний перебіг хвороби є повільнішим, незважаючи на те, що вона є частиною фенотипового континууму (Goker-Alpan et al. (2003)) і в деяких випадках можна виявити таких пацієнтів за результатами аналізу мутацій ще до початку вияву невропатичного фенотипу (Ida et al., Human Genetics 105: 120-126 (1999)). На основі результатів, що отримуються, можна було б зробити висновок, що для лікування цих пацієнтів необхідний більш агресивний спосіб терапії з раннім початком. Низькомолекулярні інгібітори глікозилцерамід-синтази можуть являти собою один з засобів такого всебічного підходу.

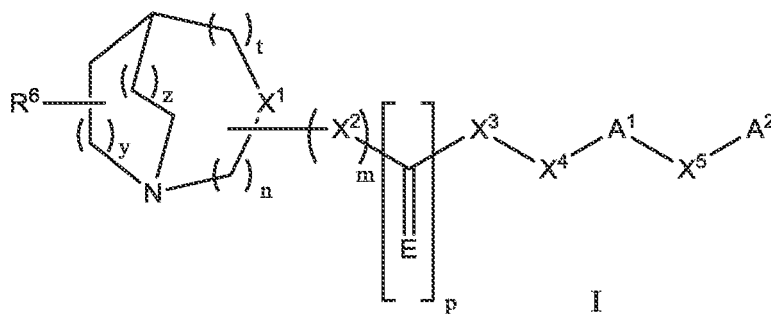
Приклад 127

SMT самців і самиць мишей з хворобою Фабрі, яких лікували сполуками GZ 452, GZ 161 і GZ 638

Лікування мишей з хворобою Фабрі починали у віці приблизно 8 місяців і продовжували протягом 4 місяців, застосовуючи: 60 мг/кг/день GZ 452 (Fab 452 при 60 мг/кг/день), 120 мг/кг/день GZ 452 (Fab 452 при 120 мг/кг/день), 20 мг/кг/день GZ 161 (Fab 161 при 20 мг/кг/день), 300 мг/кг/день GZ 638 (Fab 638 при 300 мг/кг/день). У тканини нирок 12-місячних самців і самиць мишей з хворобою Фабрі визначали рівні Gb3. Як показано на Фіг. 17, сполуки GZ 161 і GZ 452 значно зменшували кількість Gb3 в тканині нирок в порівнянні з контрольними тваринами, лікування яких не проводили (Fab НЛ 12 місяців).

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування суб'єкта з поставленим діагнозом хвороби лізосомного накопичення, що включає введення суб'єкту ефективної кількості сполуки, представлені наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятної солі, де:

n дорівнює 1 або 2;

m дорівнює 0 або 1;

p дорівнює 1;

t дорівнює 0;

y дорівнює 1;

z дорівнює 0 або 1;

E являє собою O;

X¹ являє собою CR¹, коли m дорівнює 1, або N, коли m дорівнює 0;

X² являє собою O, -NH-, -CH₂- або -NR²;

X³ являє собою O, -NH-, -CH₂-, -CH(C₁-C₆)-алкіл або -NR³;

X⁴ являє собою CR⁴R⁵ або CH₂CR⁴R⁵;

X⁵ являє собою прямий зв'язок, O або (C₁-C₆)-алкілоксигрупу;

R¹ являє собою H, CN, (C₁-C₆)-алкілкарбоніл або (C₁-C₆)-алкіл;

кожний з радикалів R^2 і R^3 незалежно являє собою -H або, необов'язково, коли X^2 являє собою - NR^2 і X^3 являє собою - NR^3 , R^2 і R^3 разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють неароматичне гетероциклічне кільце;

5 R^4 і R^5 є незалежно вибраними з H, (C_1-C_6) -алкілу, або спільно з вуглецем, до якого вони приєднані, вони утворюють спіро- (C_3-C_{10}) -циклоалکیلне кільце або спіро- (C_3-C_{10}) -циклоалкоксильне кільце;

R^6 являє собою -H, -CN або (C_1-C_6) -алкіл;

10 A^1 являє собою (C_6-C_{12}) -арил, (C_2-C_9) -гетероарил або бензо- (C_2-C_9) -гетероциклоалкіл, де вказаний (C_6-C_{12}) -арил, (C_2-C_9) -гетероарил або бензо- (C_2-C_9) -гетероциклоалкіл необов'язково заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає галоген, (C_1-C_6) -алкіл, (C_1-C_6) -алкеніл і (C_1-C_6) -алкоксигрупу;

A^2 являє собою H, (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил, де вказаний (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил необов'язково заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, яка включає галоген, (C_1-C_6) -алкіл, необов'язково заміщений 1-3 галогенами; CN і (C_1-C_6) -алкілоксигрупу, необов'язково заміщену 1-3 галогенами; за умови, що, коли n дорівнює 1, t дорівнює 0, y дорівнює 1, z дорівнює 1, X^2 являє собою NH, E являє собою O, X^3 являє собою NH, A^2 являє собою H і X^5 являє собою прямий зв'язок, A^1 не є незаміщеним фенілом, галогенфенілом або ізопропенілфенілом;

20 за умови, що, коли n дорівнює 1, t дорівнює 0, y дорівнює 1, z дорівнює 1, X^2 являє собою O, E являє собою O, X^3 являє собою NH, A^1 являє собою (C_6-C_{12}) -арил і X^5 являє собою прямий зв'язок, A^2 являє собою H і R^4 являє собою H, тоді R^5 не є циклогексильом; і

за умови, що, коли n дорівнює 1, t дорівнює 0, y дорівнює 1, z дорівнює 1, X^2 являє собою NH, E являє собою O, X^3 являє собою CH_2 , R^4 і R^5 обидва радикали являють собою водень, A^2 являє собою H і X^5 являє собою прямий зв'язок, тоді A^1 не є незаміщеним фенілом.

25 2. Спосіб за п. 1, де n дорівнює 1, t дорівнює 0, y дорівнює 1 і z дорівнює 1.

3. Спосіб за п. 1, де m дорівнює 1 і X^1 являє собою CR^1 .

4. Спосіб за п. 1, де m дорівнює 0 і X^1 являє собою N.

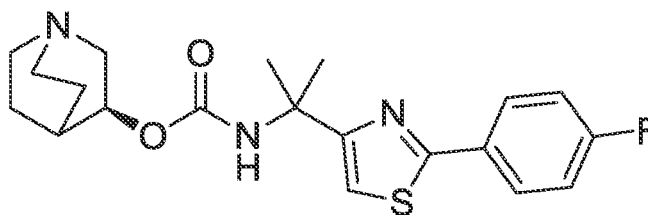
5. Спосіб за п. 1, де m дорівнює 1, E являє собою O, X^2 являє собою O і X^3 являє собою NH.

6. Спосіб за п. 1, де A^1 являє собою (C_2-C_9) -гетероарил.

30 7. Спосіб за п. 6, де A^1 являє собою тіофен, тіазол, ізотіазол, фуран, оксазол, ізоксазол, пірол, імідазол, піразол, триазол, піридин, піримідин, піридазин, індол, бензотіазол, бензоізоксазол, бензопіразол, бензоімідазол, бензофуран, бензооксазол або бензоізоксазол.

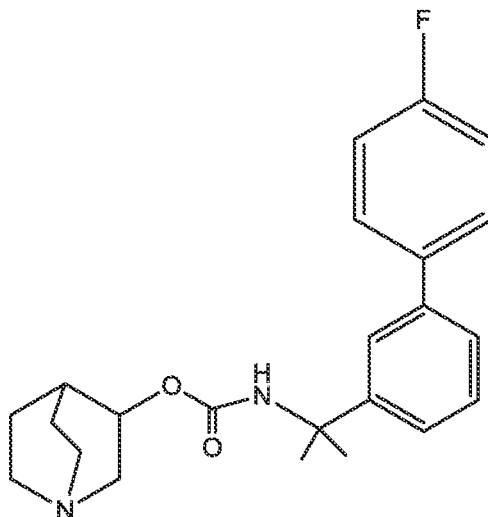
8. Спосіб за п. 1, де n дорівнює 1 або 2, t дорівнює 0, y дорівнює 1, z дорівнює 0, X^1 являє собою CR^1 , m дорівнює 1, p дорівнює 1, E являє собою O, X^2 являє собою O, X^3 являє собою NH, R^1 являє собою H, кожний з радикалів R^4 і R^5 незалежно являє собою метил, R^6 являє собою водень або метил, A^1 являє собою (C_2-C_9) -гетероарил, X^5 являє собою прямий зв'язок або O і A^2 являє собою (C_6-C_{12}) -арил.

9. Спосіб за п. 1, де сполука представлена наступною структурною формулою



40 або її фармацевтично прийнятною сіллю.

10. Спосіб за п. 1, де сполука представлена наступною структурною формулою



або її фармацевтично прийнятною сіллю.

11. Спосіб за будь-яким з пп. 1-10, де вказана хвороба лізосомного накопичення є результатом дефекту в глікофінголіпідному шляху.

5 12. Спосіб за п. 11, де вказана хвороба лізосомного накопичення є вибраною з групи, яка включає хворобу Гоше, хворобу Фабрі, G_{M1} -гангліозидоз, дефіцит активатора G_{M2} , хворобу Тея-Сакса і хворобу Сандхоффа.

13. Спосіб за п. 12, де вказана хвороба лізосомного накопичення являє собою хворобу Фабрі.

10 14. Спосіб за п. 12, де вказана хвороба лізосомного накопичення являє собою хворобу Гоше типу 2 або хворобу Гоше типу 3.

15. Спосіб за будь-яким з пп. 1-10, який додатково включає введення вказаному суб'єкту терапевтично ефективної кількості лізосомного ферменту.

16. Спосіб за п. 15, де вказаний лізосомний фермент є вибраним з групи, яка включає глюкоцереброзидазу, альфа-галактозидазу А, гексозамінідазу А, гексозамінідазу В і G_{M1} -гангліозид- β -галактозидазу.

17. Спосіб за п. 16, де вказаний лізосомний фермент являє собою альфа-галактозидазу А.

18. Спосіб за п. 16, де вказаний лізосомний фермент являє собою глюкоцереброзидазу.

19. Спосіб зменшення активності глюкозилцерамідсинтази (GCS) у пацієнта, якому поставлений діагноз розладу лізосомного накопичення, що включає введення ефективної
20 кількості сполуки, як визначено у будь-якому з пп. 1-10, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією.

20. Спосіб лікування захворювання або розладу, який опосередковується глюкозилцерамідсинтазою (GCS), або захворювання або розладу, в які залучена GCS, у суб'єкта, що потребує такого лікування, який включає введення вказаному суб'єкту ефективної
25 кількості сполуки, як визначено у будь-якому з пп. 1-10.

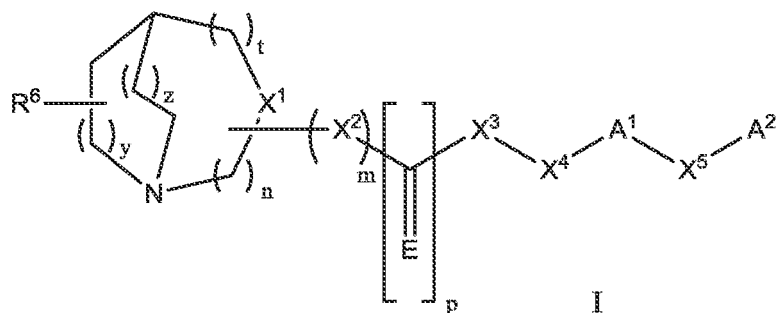
21. Спосіб за п. 20, де вказане захворювання або розлад являє собою рак, метаболічний розлад, неврологічне захворювання або захворювання, при якому має місце надмірний синтез гліколіпідів, вибране з атеросклерозу, полікістозної хвороби нирок і гіпертрофії нирок.

22. Спосіб за п. 21, де вказане неврологічне захворювання являє собою хворобу Альцгеймера
30 або хворобу Паркінсона.

23. Спосіб зменшення накопичення матеріалу, що виробляється GCS, у суб'єкта, якому поставлений діагноз хвороби лізосомного накопичення, що включає введення ефективної кількості сполуки за будь-яким з пп. 1-10, або у вигляді монотерапії, або в поєднанні з ферментозамісною терапією.

35 24. Сполука за будь-яким з пп. 1-10, для застосуванні у способі за будь-яким з пп. 1 і 11-23.

25. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

$n, m, p, t, y, z, E, X^1, X^2, X^4, X^5, R^1, R^2, R^3, R^6$ і A^1 являють собою значення, визначені в п. 1;

і де X^3 являє собою O, -NH або NR^3 ;

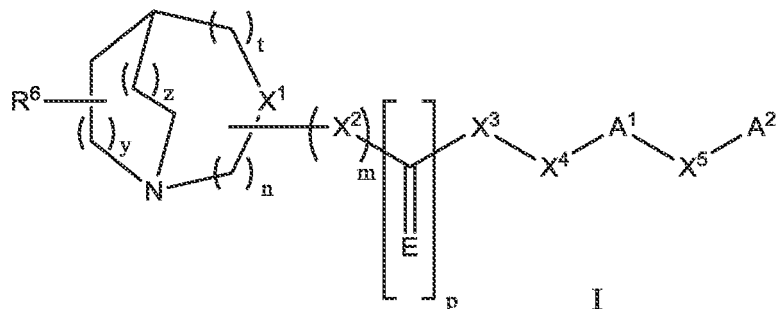
та R^4 і R^5 незалежно вибирають з (C₁-C₆)-алкілу; і

A^2 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл, (C₆-C₁₂)-арил або (C₂-C₉)-гетероарил, де вказаний (C₃-C₁₀)-циклоалкіл, (C₆-C₁₂)-арил або (C₂-C₉)-гетероарил необов'язково заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, що включає галоген, (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково заміщений 1-3 галогенами; CN і (C₁-C₆)-алкілоксигрупу, необов'язково заміщену 1-3 галогенами.

26. Сполука за п. 25, де кожний радикал R^4 і R^5 являє собою метил.

27. Сполука за п. 25, де n дорівнює 1 або 2, t дорівнює 0, y дорівнює 1, z дорівнює 0 або 1, X^1 являє собою CR^1 , m дорівнює 1, p дорівнює 1, E являє собою O, X^2 являє собою O, X^3 являє собою NH, R^1 являє собою H, кожний з радикалів R^4 і R^5 незалежно являє собою метил, R^6 являє собою водень або метил, A^1 являє собою (C₂-C₉)-гетероарил, X^5 являє собою прямий зв'язок або O, і A^2 являє собою (C₆-C₁₂)-арил.

28. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятна сіль, де

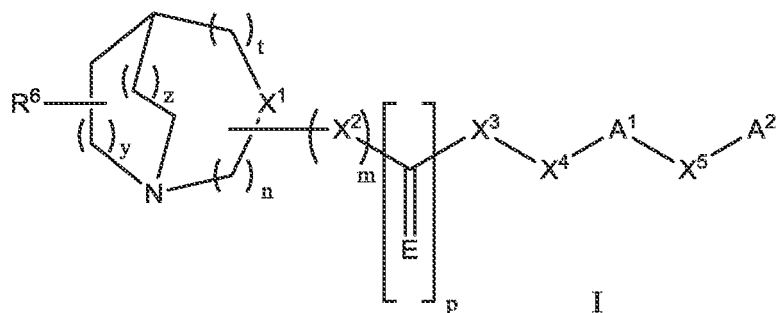
$n, m, p, t, y, z, E, X^1, X^2, X^4, X^5, R^1, R^2, R^3, R^6$ і A^1 являють собою значення, визначені в п. 1;

і де X^3 являє собою O, -NH або NR^3 ;

R^4 і R^5 є H; і

A^2 являє собою (C₃-C₁₀)-циклоалкіл, (C₆-C₁₂)-арил або (C₂-C₉)-гетероарил, де вказаний (C₃-C₁₀)-циклоалкіл, (C₆-C₁₂)-арил або (C₂-C₉)-гетероарил заміщений одним або більше замісником, вибраним з групи, що включає галоген, (C₁-C₆)-алкіл, необов'язково заміщений 1-3 галогенами; CN і (C₁-C₆)-алкілоксигрупу, необов'язково заміщену 1-3 галогенами.

29. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятна сіль, де

$n, m, p, t, y, z, E, X^1, X^2, X^4, X^5, R^1, R^2, R^3, R^6$ і A^1 являють собою значення, визначені в п. 1;

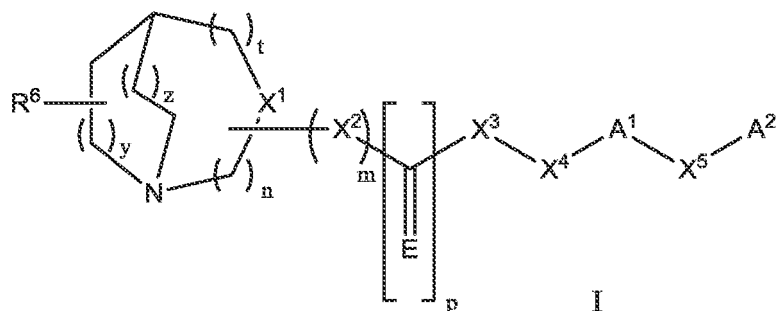
5 і де X^3 являє собою O, -NH або NR^3 ;

один з R^4 і R^5 є H, а інший являє собою (C_1-C_6) -алкіл; і

A^2 являє собою (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил, де вказаний (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил заміщений одним або більше замісником, вибраним з групи, що включає галоген, (C_1-C_6) -алкіл, необов'язково заміщений 1-3 галогенами; CN і (C_1-C_6) -алкілоксигрупу, необов'язково заміщену 1-3 галогенами.

10

30. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

де $n, m, p, t, y, z, E, X^1, X^2, X^4, X^5, R^1, R^2, R^3, R^6$ і A^1 являють собою значення, визначені в п. 1;

15 і де X^3 являє собою O, -NH або NR^3 ;

R^4 і R^5 є незалежно вибраними з H, (C_1-C_6) -алкілу або разом з вуглецем, до якого вони приєднані, вони утворюють спіро- (C_3-C_{10}) -циклоалکیلне кільце або спіро- (C_3-C_{10}) -циклоалкоксильне кільце; і

20 A^2 являє собою (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил, де вказаний (C_3-C_{10}) -циклоалкіл, (C_6-C_{12}) -арил або (C_2-C_9) -гетероарил необов'язково заміщений одним або більше замісниками, вибраними з групи, що включає галоген, (C_1-C_6) -алкіл, необов'язково заміщений 1-3 галогенами; CN і (C_1-C_6) -алкілоксигрупу, необов'язково заміщену 1-3 галогенами.

31. Сполука за будь-яким з пп. 25-30, де n дорівнює 1, t дорівнює 0, y дорівнює 1 і z дорівнює 1.

32. Сполука за будь-яким з пп. 25-31, де m дорівнює 1 і X^1 являє собою CR^1 .

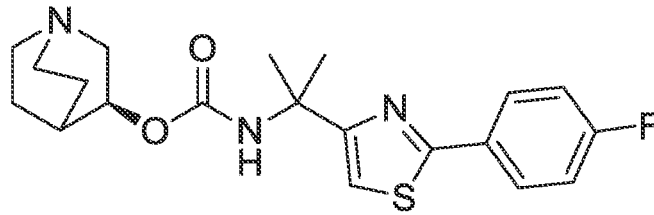
25 33. Сполука за будь-яким з пп. 25-31, де m дорівнює 1; E являє собою O; X^2 являє собою O і X^3 являє собою NH.

34. Сполука за будь-яким з пп. 25-33, де A^1 являє собою (C_2-C_9) -гетероарил.

35. Сполука за п. 34, де A^1 являє собою тіофен, тіазол, ізотіазол, фуран, оксазол, ізоксазол, пірол, імідазол, піразол, триазол, піридин, піримідин, піридазин, індол, бензотіазол, бензоізоксазол, бензопіразол, бензоімідазол, бензофуран, бензооксазол або бензоізоксазол.

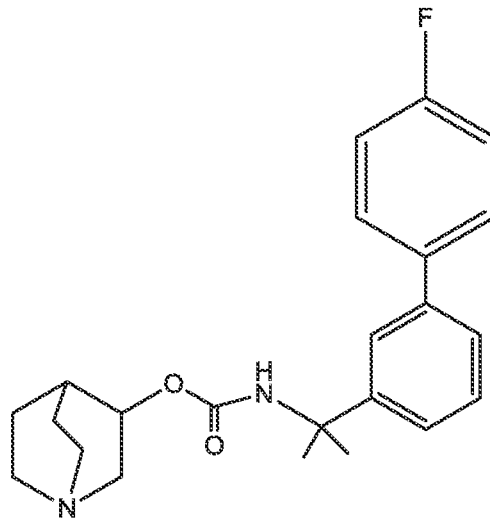
30

36. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



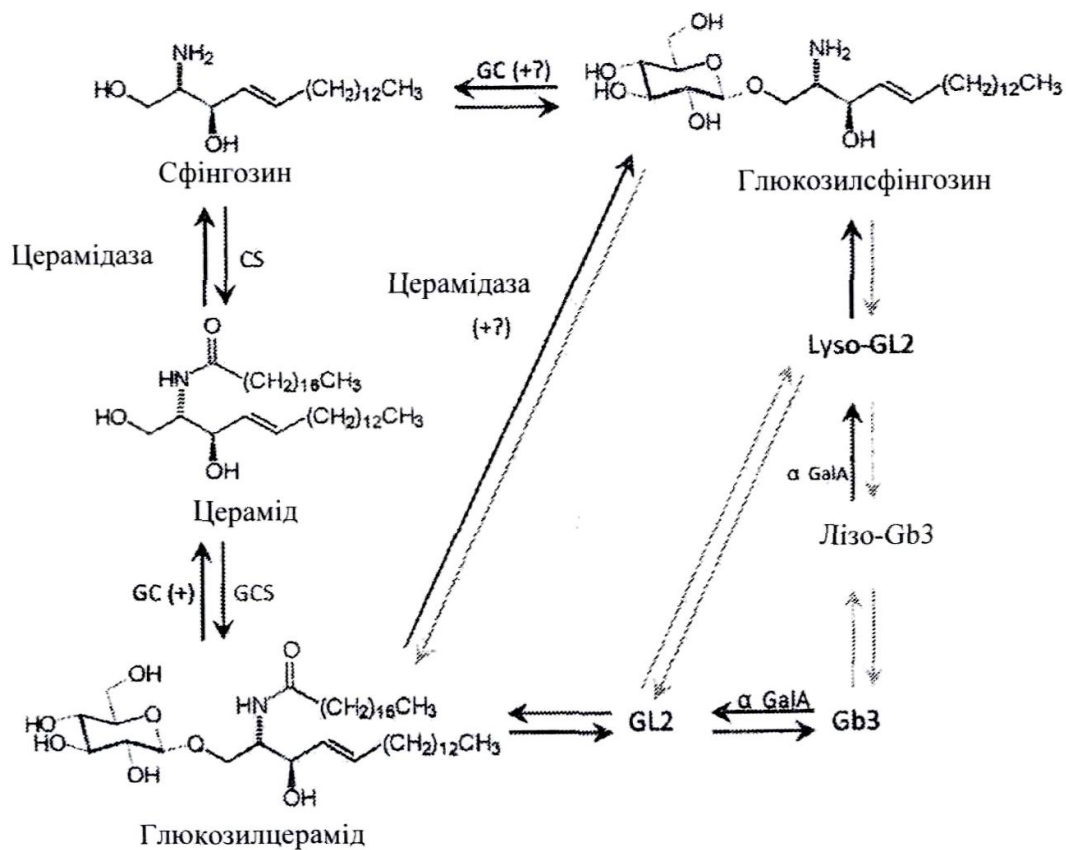
або її фармацевтично прийнятна сіль.

37. Сполука, представлена наступною структурною формулою:



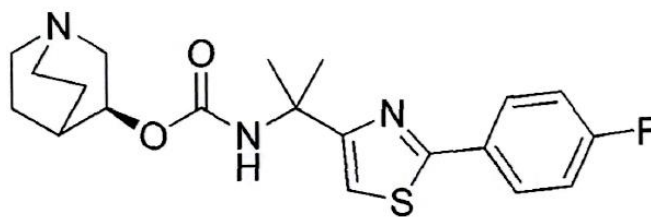
5 або її фармацевтично прийнятна сіль.

38. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким з пп. 25-37 і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій.



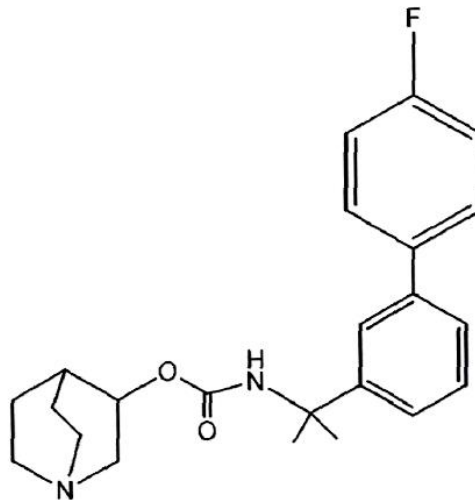
Фіг. 1

Хімічна структура (S)-хінуклідин-3-іл-(2-(2-(4-фторфеніл)-тіазол-4-іл)пропан-2-іл)-карбамату

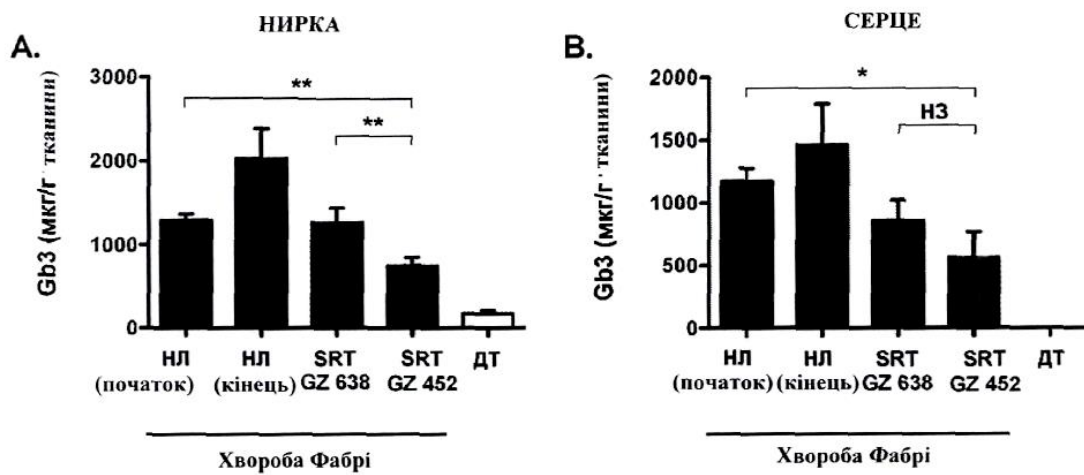


Фіг. 2A

Хімічна структура хінуклідин-3-іл-(2-(4'-фтор-[1,1'-біфеніл]-3-іл)пропан-2-іл)-карбамату



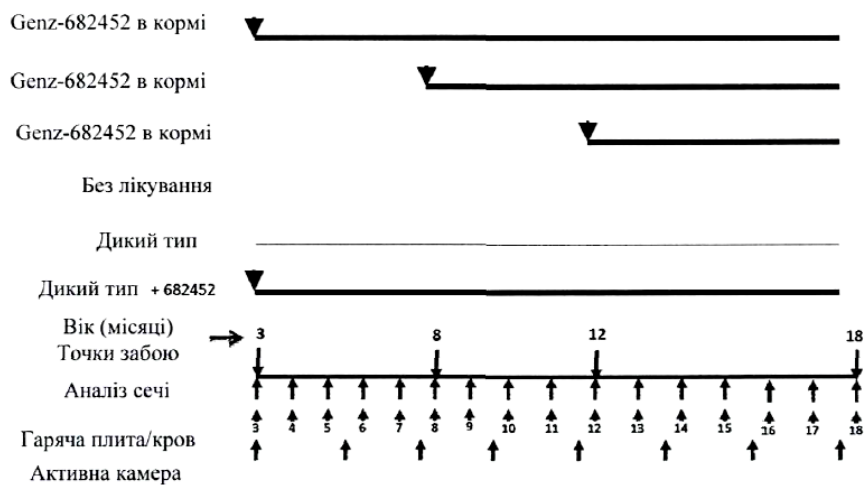
Фіг. 2В



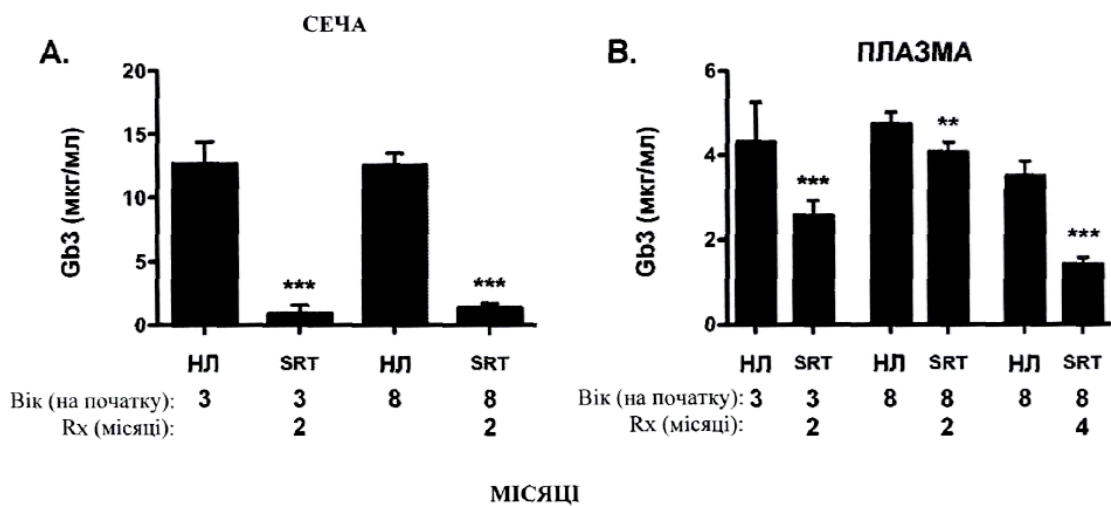
Планки погрешностей = станд. відхил.; *= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; НЗ = незначно

Фіг. 3

Тривала SRT мишей різного віку з хворобою Фабрі

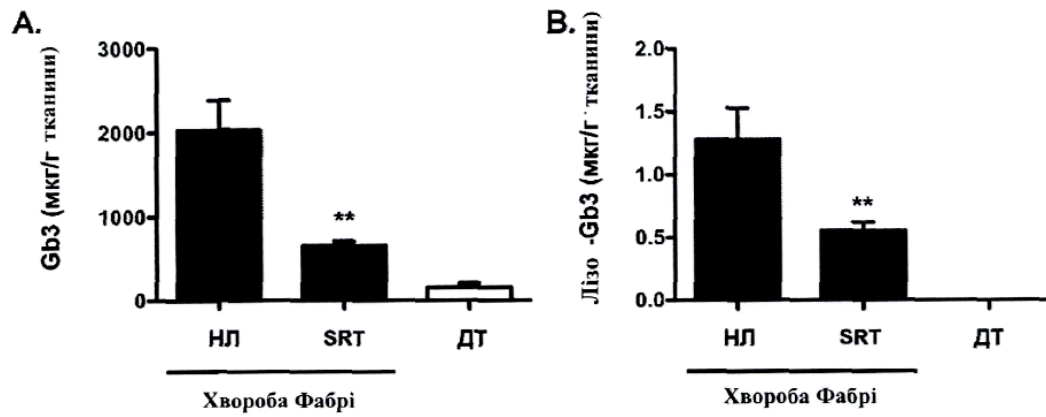


Фіг. 4А



Планки погрешностей = станд. відхил.; P (відносно НЛ того ж віку) < ** = 0,01, *** = 0,001

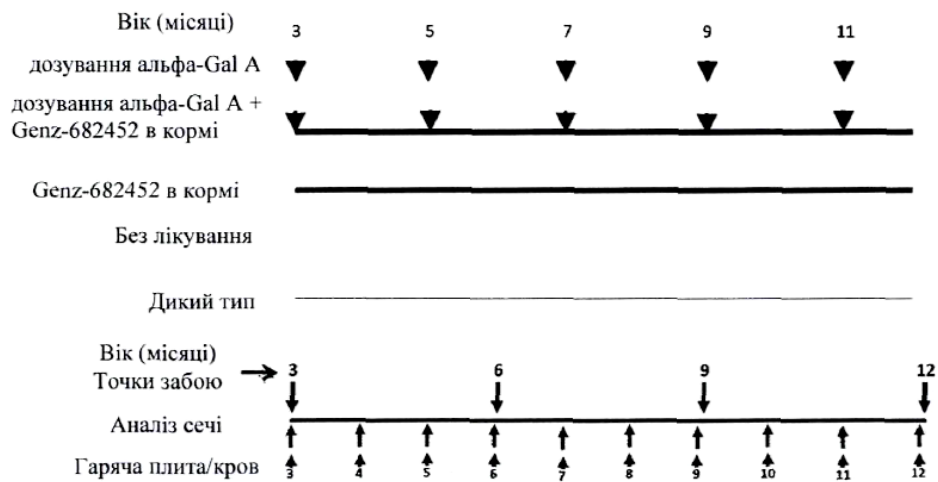
Фіг. 4В



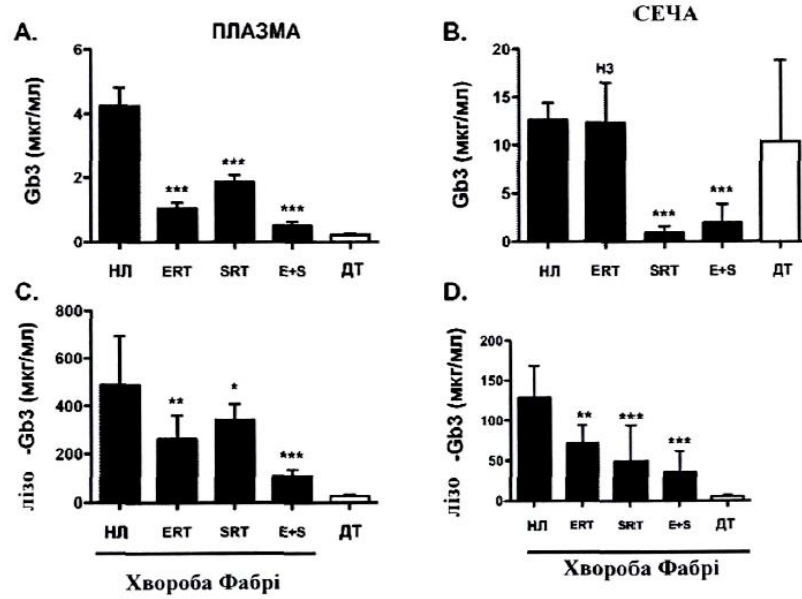
Планки погрешностей = станд. відхил.; P (відносно НЛ) < ** = 0,01

Фіг. 5

Календарний план для ERT ± SRT у мишей з хворобою Фабрі

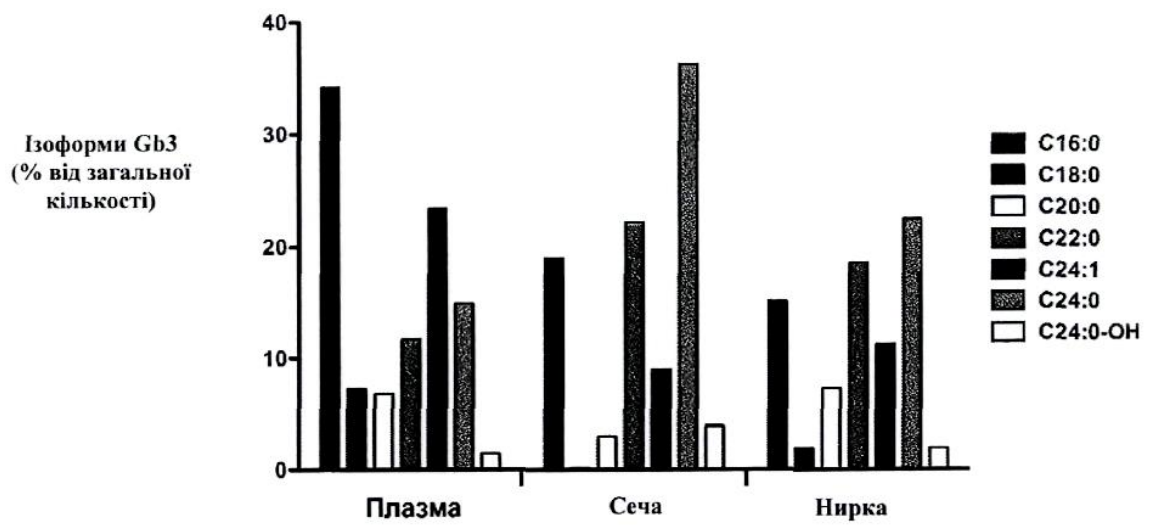


Фіг. 6А

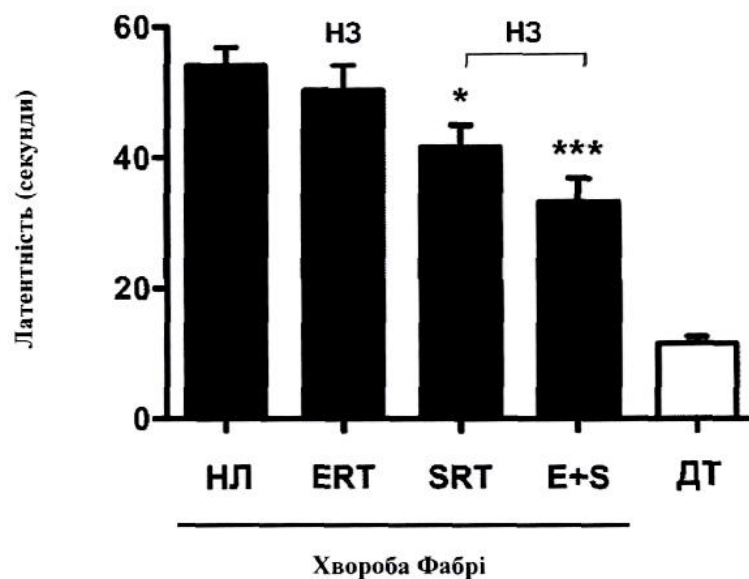


Планки погрешностей = станд. відхил.; P (відносно НЛ) < *=0,05, **=0,01, ***=0,001. НЗ = незначно

Фіг. 6В

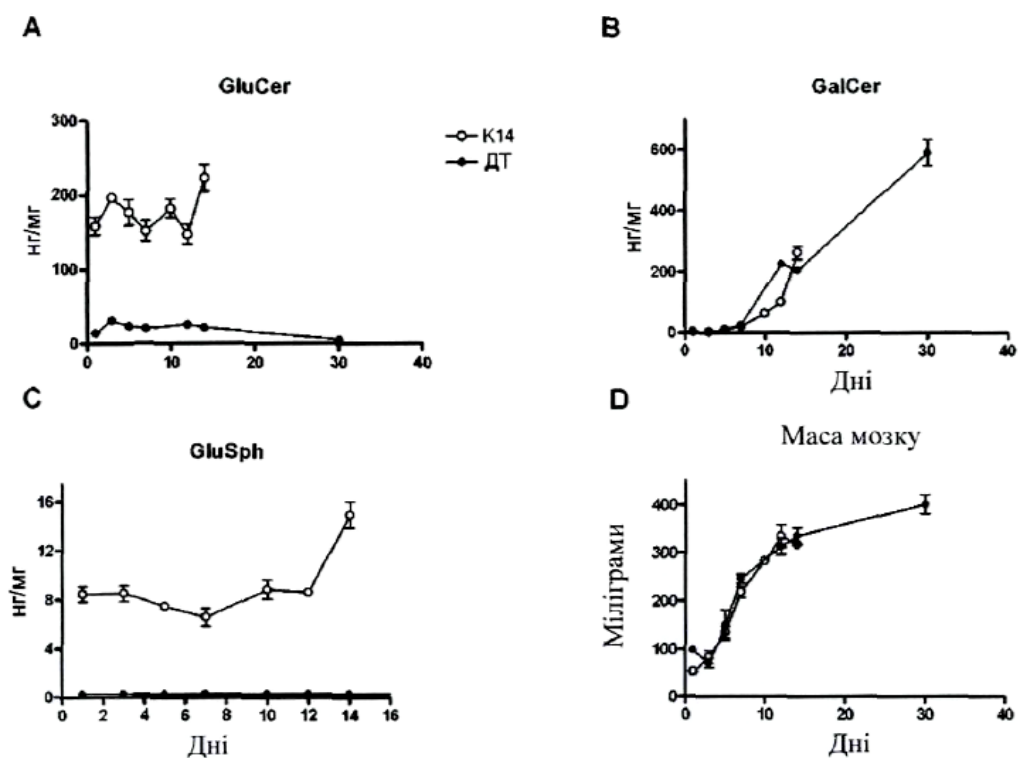


Фіг. 7

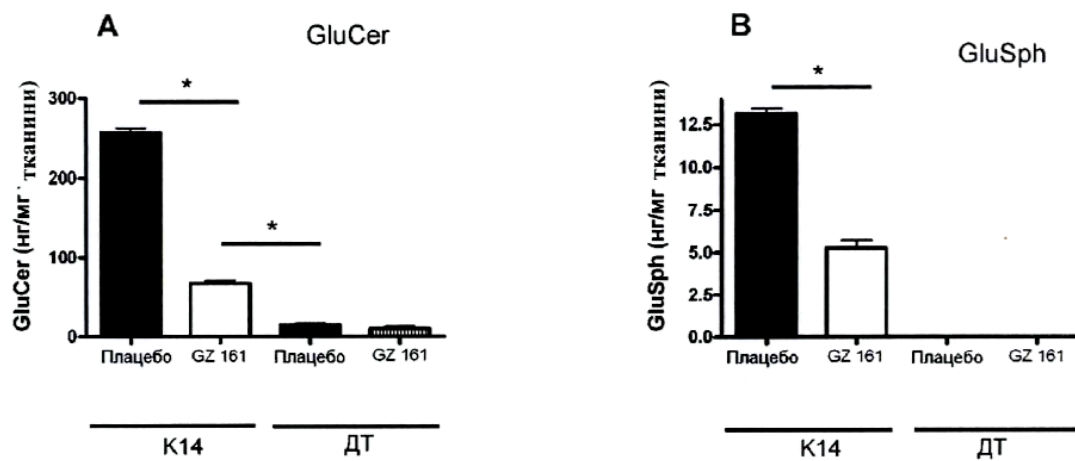


Планки погрешностей = станд. відхил.; N = 12 мишей на групу; P (відносно НЛ, якщо не указано інакше) < * = 0,05, *** = 0,001, H3 = незначно

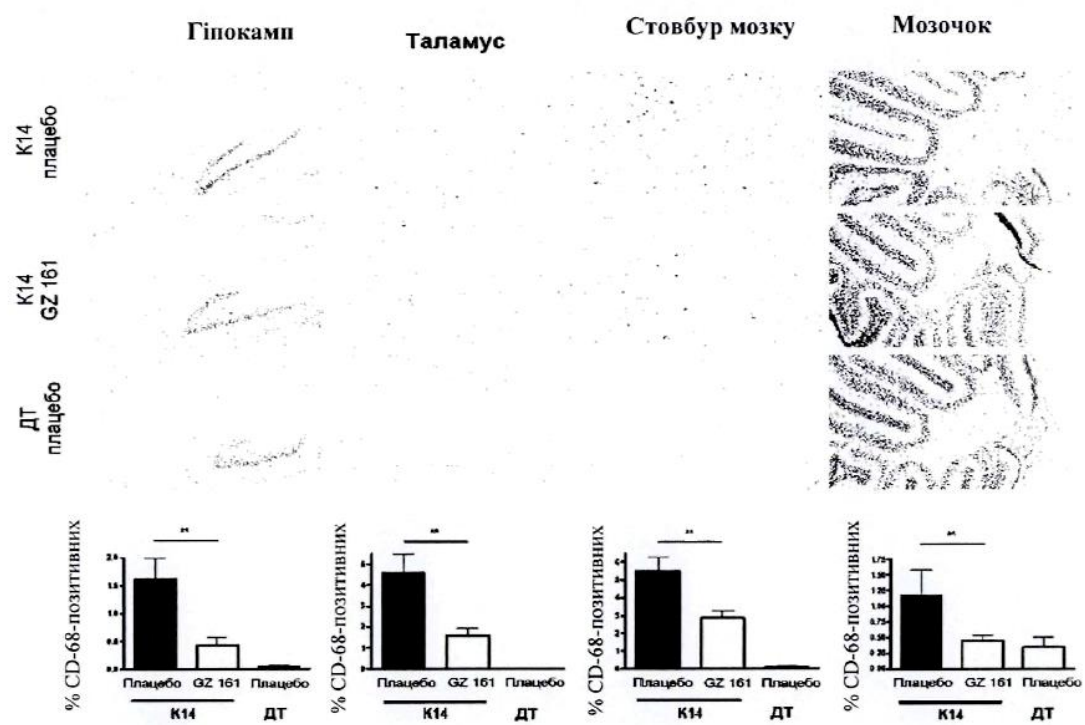
Фіг. 8



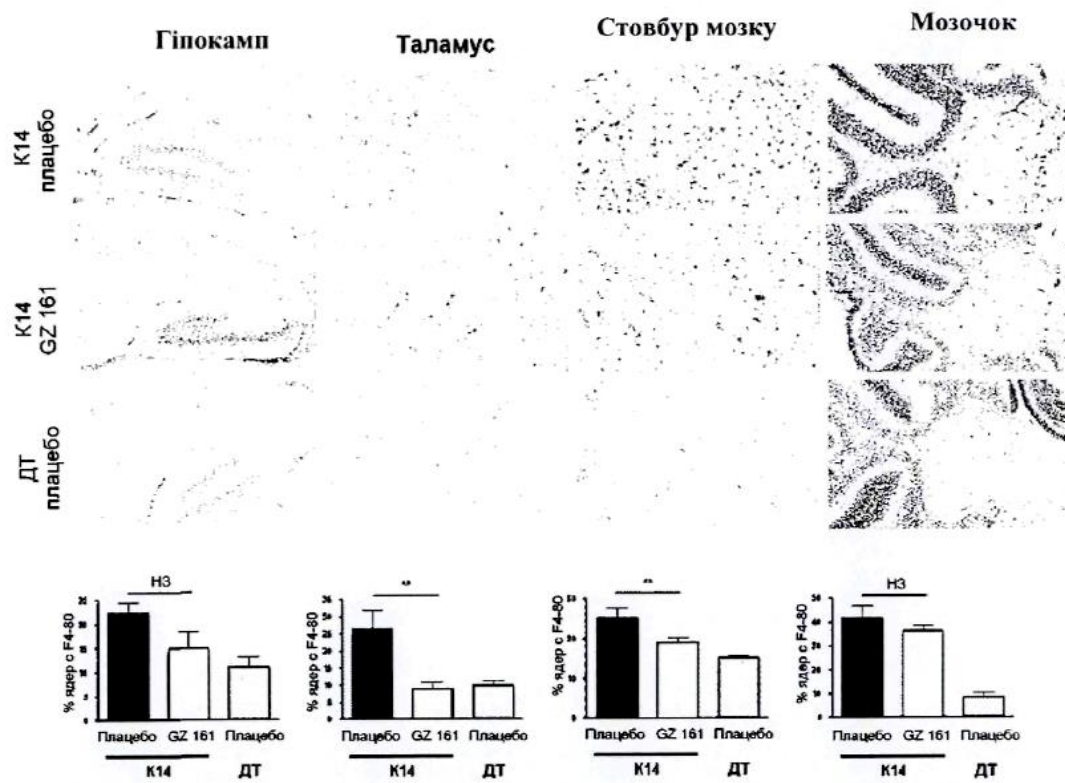
Фіг. 9



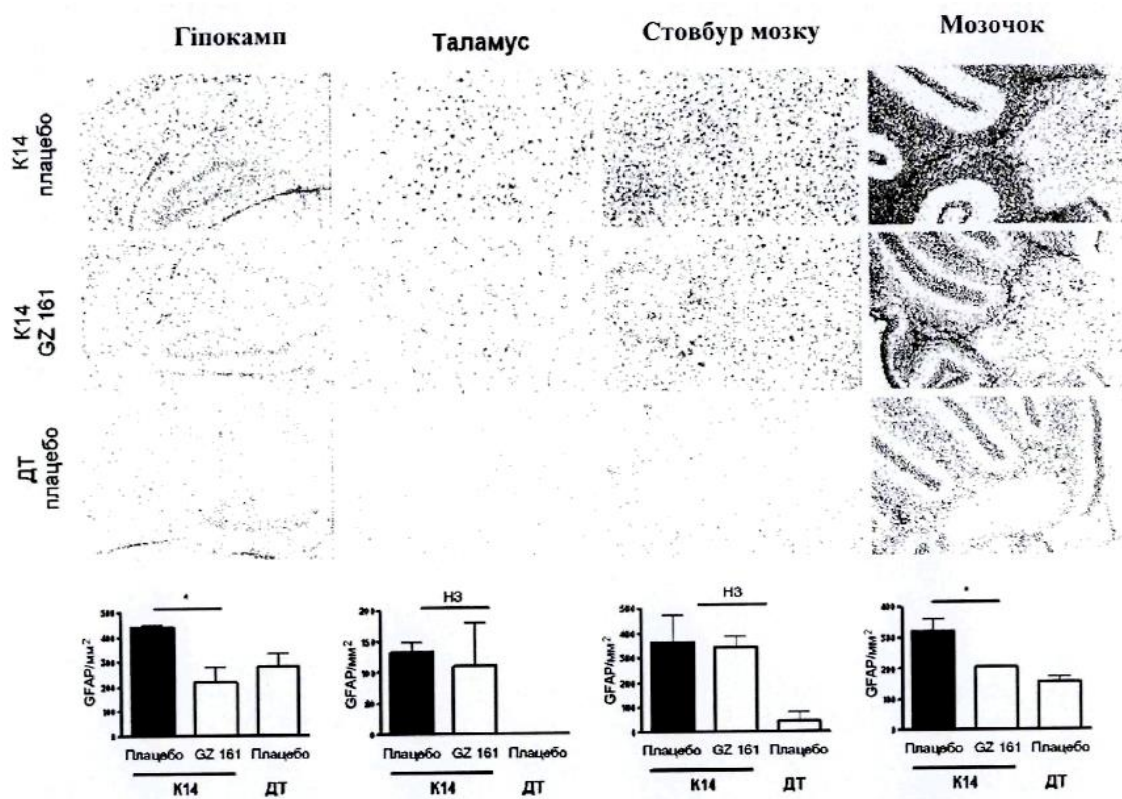
Фиг. 10



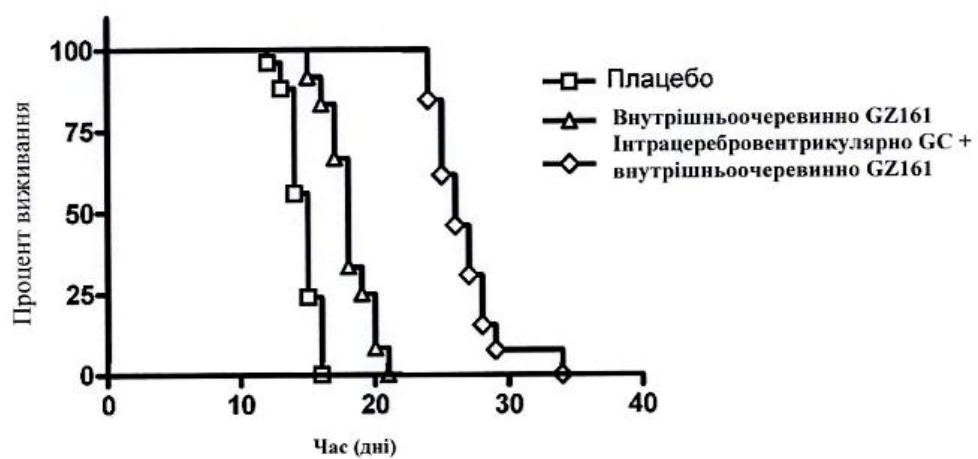
Фиг. 11



Фіг. 12



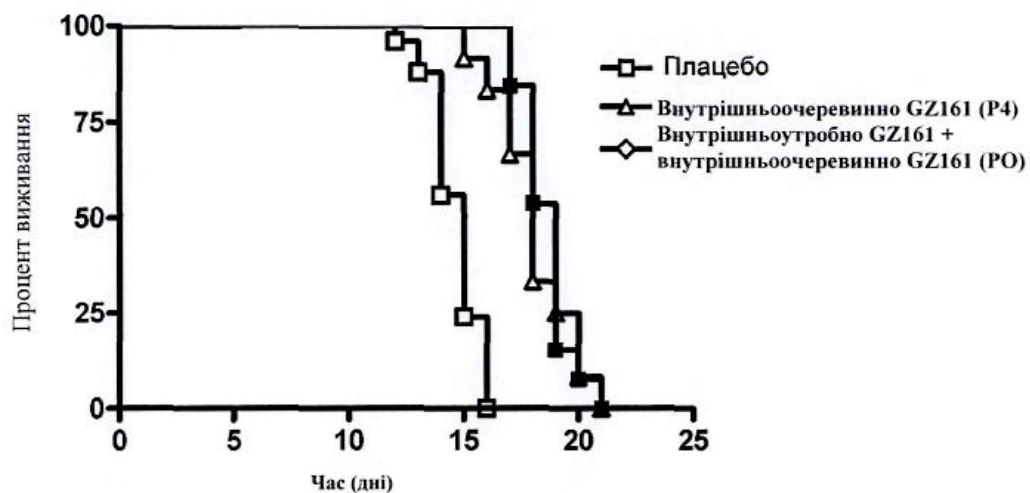
Фіг. 13



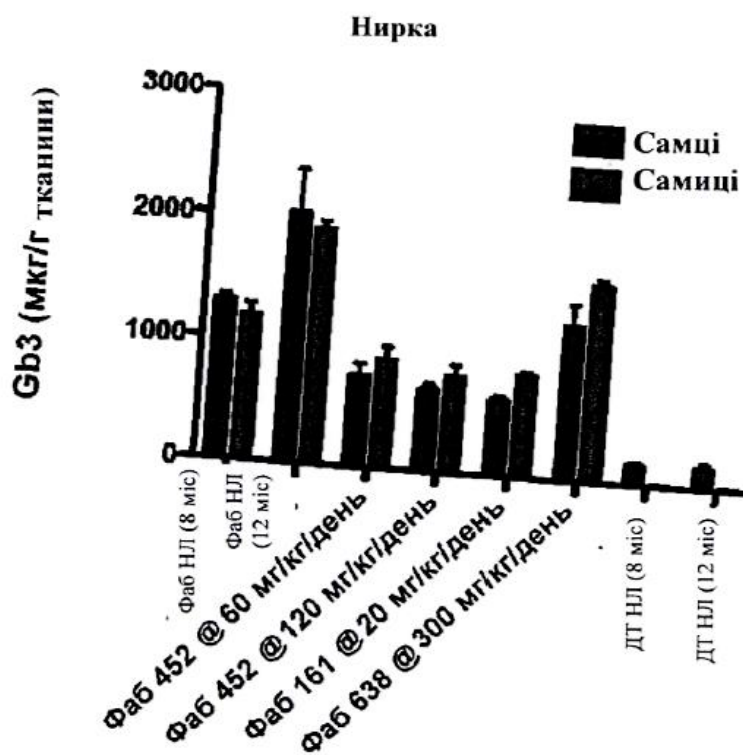
Фіг. 14



Фіг. 15



Фіг. 16



Фіг. 17

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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