



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121188** (13) **C2**

(51) МПК (2020.01)

**C07D 405/12** (2006.01)

**A61K 31/404** (2006.01)

A61P 3/00

A61P 25/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: <b>a 2013 12737</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>12.11.2008</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>27.04.2020</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/112,152, 61/112,145</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>06.11.2008, 06.11.2008</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US, US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>25.02.2014, Бюл.№ 4</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>27.04.2020, Бюл.№ 8</b></p> <p>(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21): <b>a201106975, 12.11.2008</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Руа Сара Хадіда С. (US), Гротенхейс Петер Д. Й. (US), Ван Гур Фредрік (US), Міллер Марк Т. (US), Маккартні Джейсон (US), Чжоу Цзинлань (US), Беар Брайан (US), Нума Мехді Мішель Джамель (US)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ВЕРТЕКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ ІНКОРПОРЕЙТЕД, 50 Northen Avenue, Boston MA 02210, United States of America (US)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: [US], 05.01.2006, 319 арк. WO 2006/002421 A2 (VERTEX PHARMA [US]), 12.07.2007, 89 арк. WO 2007/079139 A2 (VERTEX PHARMA [US]), 22.11.2007, 30 арк. WO 2007/134279 A2 (VERTEX PHARMA [US]), 18.10.2007, 276 арк. WO 2007/117715 A (VERTEX PHARMA</p>
---	---

## (54) МОДУЛЯТОРИ АТФ-ЗВ'ЯЗУВАЛЬНИХ КАСЕТНИХ ТРАНСПОРТЕРІВ

### (57) Реферат:

Сполуки за даним винаходом і фармацевтично прийнятні композиції, їх що містять, використовують як модулятори АТФ-зв'язувальних касетних ('ABC') транспортерів або їх фрагменти, включаючи регулятор трансмембранної провідності при муковісцидозі ('CFTR'). Крім того, даний винахід належить до способів лікування опосередкованих ABC-транспортерами захворювань, що використовують сполуку за даним винаходом.

UA 121188 C2



За даною заявкою запитується пріоритет на основі патентних заявок США № 61/112152 і 61/112145, обидві з яких подані 6 листопада 2008 року. Повний зміст цих заявок включений в даний опис в повному обсязі.

Даний винахід належить до модуляторів АТФ-зв'язувальних касетних ("ABC") транспортерів або їх фрагментів, включаючи регулятор трансмембранної провідності при муковісцидозі ("CFTR"), композицій на їх основі і пов'язаних з ними способів. Крім того, даний винахід належить до способів лікування опосередкованих ABC-транспортером захворювань, що використовують вищезгадані модулятори.

ABC-транспортери являють собою сімейство мембранних білків-переносників, які регулюють транспорт великої кількості фармакологічних засобів, потенційно токсичних лікарських засобів і ксенобіотиків, а також аніонів. ABC-транспортери являють собою гомологічні мембранні білки, які зв'язують і використовують клітинний аденозинтрифосфат (АТФ) для виявлення своєї специфічної активності. Деякі з цих транспортерів були розкриті як резистентні до багатьох лікарських засобів білки (подібно до глікопротеїну MDR1-P, або MRP1, білка, асоційованого з множинною лікарською резистентністю), що захищають злоякісні ракові клітини від хіміотерапевтичних засобів. На сьогоднішній день, було ідентифіковано 48 ABC-транспортерів, які були розподілені по 7 класам, виходячи з ідентичності їх послідовності і функціонування.

ABC-транспортери регулюють цілий ряд важливих фізіологічних процесів всередині живого організму і забезпечують захист від шкідливих сполук навколишнього середовища. Внаслідок цього, вони являють собою важливі потенційні мішені для лікарських засобів у випадку лікування захворювань, пов'язаних з дефектами транспортера, запобігання перенесенню лікарського засобу з клітини-мішені і втручання в інші захворювання, в яких модуляція активності ABC-транспортера може бути корисною.

Одним представником сімейства ABC-транспортерів, зазвичай пов'язаним із захворюванням, є цАМФ/АТФ-опосередкований аніонний канал, CFTR. CFTR експресується в цілому ряді типів клітин, включаючи абсорбуючі і секреторні епітеліальні клітини, де він регулює аніонний потік через мембрану, а також активність інших іонних каналів і білків. У епітеліальних клітинах нормальне функціонування CFTR є необхідним для підтримки транспорту електролітів по всьому організму, включаючи дихальну і травну тканину. CFTR складається з приблизно 1480 амінокислот, які кодуєть білок, складений з тамдемною дуплікації трансмембранних доменів, при цьому кожен містить шість трансмембранних спіралей і зв'язувальний нуклеотид домен. Два трансмембранні домени зв'язані великим, полярним, регуляторним (R)-доменом з множинними сайтами фосфорилування, які регулюють активність каналу і направлену міграцію клітин.

Був ідентифікований і секвенований ген, що кодує CFTR (див. Gregory, R.J. et al. (1990) Nature 347: 382-386; Rich, D.P. et al. (1990) Nature 347: 358-362), (Riordan, J.R. et al. (1989) Science 245: 1066-1073). Дефект в цьому гені викликає мутації в CFTR, що призводять до муковісцидозу ("CF"), найбільш поширеного фатального генетичного захворювання у людей. Муковісцидоз вражає приблизно кожного з 2500 дітей молодшого віку в США. Якщо взяти населення США загалом, то аж до 10 мільйонів людей є носіями однієї копії дефектного гена без очевидних згубних наслідків. На противагу цьому, індивідууми з двома копіями гена, що асоціюється з CF, страждають від викликаючих слабкість і летальних впливів CF, включаючи хронічне захворювання легень.

У пацієнтів з муковісцидозом, мутації в CFTR, що ендегенно експресується в респіраторних епітеліях, призводять до зниження секреції аніона на поверхні апікальної мембрани, викликаючи дисбаланс в перенесенні іонів і рідини. Виникає зниження в перенесенні аніона сприяє підвищенню накопичення слизу в легені і бактеріальним інфекціям, які супутні цьому, які, зрештою, викликають смерть у пацієнтів з CF. Крім респіраторного захворювання, пацієнти з CF зазвичай страждають на проблеми, пов'язані з шлунково-кишковим трактом і недостатністю підшлункової залози, що при відсутності лікування призводить до смерті. Крім того, більша частина чоловіків з муковісцидозом - безплідні, а серед жінок з муковісцидозом знижується фертильність. На противагу серйозним наслідкам наявності двох піків гена, що асоціюється з CF, індивідууми з однією копією гена, що асоціюється з CF, демонструють підвищену резистентність до холери і дегідратації, що є наслідком діареї, що, можливо, пояснює відносно високу частоту наявності гена CF серед населення.

Аналіз послідовності гена CFTR хромосом CF виявив цілий ряд мутацій, що викликають хворобу (Cutting, G.R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863:870; and Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451). На сьогоднішній день було ідентифіковано >1000 викликаючих захворювання мутацій в гені CF (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). Найбільш широко

поширеною мутацією є делеція фенілаланіну в положенні 508 амінокислотної послідовності CFTR, і її зазвичай називають  $\Delta F508$ -CFTR. Ця мутація відбувається в приблизно 70 % випадків муковісцидозу і пов'язана з серйозним захворюванням.

Делеція залишку 508 в  $\Delta F508$ -CFTR заважає здійсненню правильного укладання білка, що народжується. Це призводить до нездатності мутантного білка вийти з ER (ендоплазматичного ретикулу) і мігрувати в плазматичну мембрану. Внаслідок цього кількість каналів, присутніх в мембрані, виявляється значно менше, ніж спостерігається в клітинах, що експресують CFTR дикого типу. Крім порушення направленої міграції, мутація призводить до пошкодження ворітного механізму іонних каналів. Разом, зниження кількості каналів в мембрані і порушення ворітного механізму іонних каналів призводять до зниження транспорту аніонів через епітелії, що, в свою чергу, призводить до недостатнього перенесення іонів і рідини. (Quinton, P.M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Дослідження показали, однак, що знижені кількості  $\Delta F508$ -CFTR в мембрані є функціональними, хоча і менше, ніж у CFTR дикого типу. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Крім  $\Delta F508$ -CFTR, інші викликаючи захворювання мутації в CFTR, які призводять до порушення направленої міграції, синтезу і/або ворітного механізму іонних каналів, можуть бути активовані або інгібовані з метою зміни секреції аніонів і коректування прогресування і/або ступеню тяжкості захворювання.

Хоча CFTR переносить цілий ряд молекул крім аніонів, очевидно, що ця його роль (перенесення аніонів) є лише одним елементом в найважливішому механізмі транспортування іонів і води через епітелії. Інші елементи включають епітеліальний  $\text{Na}^+$  канал,  $\text{ENaC}$ ,  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$  співтранспортер,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азний насос і вазолатеральні мембранні  $\text{K}^+$  канали, які відповідають за поглинання хлориду в клітині.

Ці елементи працюють разом, забезпечуючи досягнення направленого транспорту через епітелії за допомогою їх селективної експресії і локалізації всередині клітини. Абсорбція хлориду відбувається завдяки скоординованій активності  $\text{ENaC}$  і CFTR, присутній на апікальній мембрані, і  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азному насосу і  $\text{Cl}^-$  каналам, що експресуються на базолатеральній поверхні клітини. Вторинний активний транспорт хлориду з люмінальної сторони призводить до накопичення внутрішньоклітинного хлориду, який може потім пасивно покинути клітину через  $\text{Cl}^-$  канали, призводячи до векторного транспорту. Розташування  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$  співтранспортера,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азного насоса і вазолатеральних мембранних  $\text{K}^+$  каналів на базолатеральній поверхні і CFTR на люмінальній стороні координують секрецію хлориду через CFTR на люмінальній стороні. Оскільки вода, ймовірно, ніколи активно не переноситься сама по собі, її потік через епітелії залежить від дуже маленьких трансепітеліальних осмотичних градієнтів, що генеруються об'ємним потоком натрію і хлориду.

Крім муковісцидозу, модуляція активності CFTR може бути корисною для лікування інших захворювань, що не викликаються безпосередньо мутаціями в CFTR, таких як секреторні захворювання і інші захворювання, пов'язані з фолдингом білка [укладанням білків в спіральну структуру], опосередковані CFTR. Ці хвороби включають, але ними не обмежуючись, хронічну обструктивну хворобу легень (COPD), хворобу сухих очей і синдром Шегрена.

COPD характеризується обмеженням прохідності дихальних шляхів, яке є прогресуючим і не повністю оборотним. Обмеження провідності дихальних шляхів зумовлене гіперсекрецією слизу, емфіземою і бронхіолітом. Активатори мутантного CFTR або CFTR дикого типу пропонують потенційне лікування гіперсекреції слизу і порушення мукоциліарного кліренсу, що є звичайним при COPD. Зокрема, збільшення секреції аніонів через CFTR може полегшити транспорт рідини в поверхневу рідину дихальних шляхів, що призводить до гідратації слизу і оптимізації в'язкості перциліарної рідини. Це може призвести до підвищення мукоциліарного кліренсу і зниження тяжкості симптомів, пов'язаних з COPD. Хвороба сухих очей характеризується зниженням продукування слізної рідини і аномальними профілями ліпиду, білка і слизу слізної плівки. Є багато причин для появи сухого ока, деякі з яких включають вік, наслідки операції очей з метою корекції зору з використанням лазера, артрит, лікарські препарати, хімічний/термічний опіки, алергії і хвороби, такі як муковісцидоз і синдром Шегрена. Збільшення секреції аніона через CFTR може посилити транспорт рідини з клітин ендотелію рогівки і секреторних залоз, що оточують око, підвищуючи гідратацію рогівки. Це може сприяти пом'якшенню симптомів, пов'язаних з хворобою сухих очей. Синдром Шегрена є аутоімунним захворюванням, в якому імунна система атакує вологопродукуючі залози по всьому організму, включаючи очі, рот, шкіру, респіраторну тканину, печінку, піхву і кишку. Симптоми включають сухе око, рот і піхву, а також хворобу легень. Хворобу також пов'язують з ревматоїдним артритом, системним червоним вовчаком, системним (прогресуючим) склерозом і поліміозит/дерматоміозитом. Порушена міграція білка, як вважають, викликає хворобу, для якої

варіанти лікування обмежені. Модулятори активності CFTR можуть гідратувати різні органи, уражені хворобою, і сприяти пом'якшенню симптомів, пов'язаних із захворюванням.

Як обговорювалося вище, вважають, що делеція залишку 508 в  $\Delta F508$ -CFTR заважає здійсненню правильного укладання білка, який народжується, що призводить до нездатності цього мутантного білка вийти з ER і мігрувати в плазматичну мембрану. Внаслідок цього, недостатні кількості зрілого білка присутні в плазматичній мембрані і транспорт хлориду всередині епітеліальних тканин суттєво знижується. Насправді, цей клітинний феномен порушення процесингу в ER ABC-транспортерів за допомогою ER апарату, як було показано, лежить в основі не тільки захворювання CF, але і цілого ряду інших ізольованих і спадкових хвороб. Є два шляхи, які можуть призвести до порушення функціонування ER апарату, це або втрата зв'язку з ER експортом білків, що призводить до деградації, або накопичення в ER цих дефектних/не здатних до укладання в спіральну структуру білків [Aridor M., et al., *Nature Med.*, 5(7), pp. 745-751 (1999); Shastri, B.S., et al., *Neurochem. International*, 43, pp. 1-7 (2003); Rutishauser, J., et al., *Swiss Med Wkly*, 132, pp. 211-222 (2002); Morello, J.P. et al., *TIPS*, 21, pp. 466-469 (2000); Bross P., et al., *Human Mut.*, 14, pp. 186-198 (1999)]. Захворюваннями, пов'язаними з першим класом порушення функції ER, є муковісцидоз (зумовлений наявністю не здатних до правильного укладання молекул білка  $\Delta F508$ -CFTR, як обговорено вище), спадкова емфізема (зумовлена  $\alpha 1$ -антитрипсином; не Piz варіанти), спадковий гемохроматоз, недостатність факторів згортання крові і фібринстабілізуючого фактора, така як дефіцит білка C, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, абеталіпопротеїнемія, лізосомні хвороби, такі як хвороба клітинних включень (муколіпідоз)/Хюрлера, мукополісахаридози (зумовлені лізосомальними ферментами процесингу), хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс (зумовлена  $\beta$ -гсксозамінідазою), хвороба Кріглера-Наяйра II типу (зумовлена UDP-глюкуропіл-сіалік-трансферазою), поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет (зумовлений інсуліновим рецептором), карликовість Ларона (зумовлена рецептором гормону росту), дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпопаратиреоїдизм (зумовлений препропаратиреоїдним гормоном), меланома (зумовлена тирозиназою). Хворобами, пов'язаними з останнім класом порушення функції ER, є глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема (зумовлена  $\alpha 1$ -антитрипсином (PiZ варіант), природжений гіпертиреоїдизм, незавершений остеогенез (зумовлений проколагеном I, II, IV типу), спадкова гіпофібриногенемія (зумовлена фібриногеном), недостатність АСТ (зумовлена  $\alpha 1$ -антихімотрипсином), нецукровий діабет (DI), нейрофізіологічний DI (зумовлений гормон вазопресин/V2-рецептором), нефрогенний DI (зумовлений аквапорином II), синдром Шарко-Марі-Тута (зумовлена периферичним мієліновим білком 22), хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративні хвороби, такі як хвороба Альцгеймера (зумовлена  $\beta$ APP і пресенілінами), хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деякі неврологічні порушення, пов'язані з обміном поліглутаміну, такі як хвороба Гентінгтона, спинномозкова атаксія 1 типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, Дентаторубральна і палідолярна атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчасті енцефалопатії, такі як спадкова хвороба Крейтцфельда-Якоба (зумовлена дефектом в процесингу пріонного білка), хвороба Фабрі (зумовлена лізосомальною  $\alpha$ -галактозидазою A) і синдром Штраусслера-Шейнкера (зумовлений дефектом в процесингу Prp).

Крім позитивної регуляції активності CFTR, зниження секреції аніонів модуляторами CFTR може бути корисним для лікування секреторних діарей, в яких транспорт епітеліальної води драматично зростає внаслідок активованого стимулятором секреції транспорту хлориду. Механізм включає елевацію цАМФ і стимуляцію CFTR.

Хоча існує множина причин для виникнення діареї, головні наслідки діарейних захворювань, що є результатом надмірного транспорту хлориду, є загальними для всіх і включають дегідратацію, ацидоз, порушення росту і смерть.

Гострі і хронічні діареї є гострою медичною проблемою в багатьох країнах світу. Діареї, обидві вищезгадані, як правило, виникають при недостатності або порушенні харчування, і є головною причиною смерті (5000000 смертей/рік) у дітей молодше п'яти років.

Секреторні діареї також є небезпечним етапом для пацієнтів з синдромом надбаного імунного дефіциту (СНІД) і хронічним запальним захворюванням товстої кишки (IBD). Кожний рік у 16 мільйонів мандрівників по країнах, що розвиваються, з промислово розвинених країн виявляють діарею, причому серйозність захворювання і кількість випадків діареї варіюється залежно від країни і регіону, вибраного для подорожі.

Діарея у тварин, що містяться в хліву, і домашніх тварин, таких як корови, свині і коні, вівці, кози, кішки і собаки, також відома як понос, є основною причиною смерті у цих тварин. Діарея

може бути результатом будь-якого різкого переходу з одного стану в інший, такого як віддалення дитини від грудей або фізичний рух, а також у відповідь на цілий ряд бактеріальних і вірусних інфекцій і зазвичай відбувається в межах перших декількох часів життя тварини.

Найбільш поширеною бактерією, що викликає діарею, є ентеропатогенна *E. coli* (ETEC), що має K99 pilus антиген. Загальні вірусні причини діареї включають ротавірус і коронавірус. Інші збудники інфекції включають *Cryptosporidium*, *giardia lamblia* і сальмонелу, серед інших.

Симптоми ротавірусної інфекції включають екскрецію рідких фекалій, дегідратацію і слабкість. Коронавірус викликає більш важку хворобу у новонароджених тварин, і ця інфекція має більш високий коефіцієнт смертності, ніж ротавірусна інфекція. Часто, однак, молода тварина може бути інфікована більш ніж одним вірусом або комбінацією вірусних і бактеріальних мікроорганізмів одночасно. Така ситуація драматично ускладнює серйозність захворювання.

Таким чином, існує потреба в модуляторах активності ABC-транспортів, і композиціях, їх що містять, які можуть бути використані для модуляції активності ABC-транспортера в клітинній мембрані ссавця.

Існує потреба в способах лікування опосередкованих ABC-транспортером захворювань, що використовують модулятори активності ABC-транспортів.

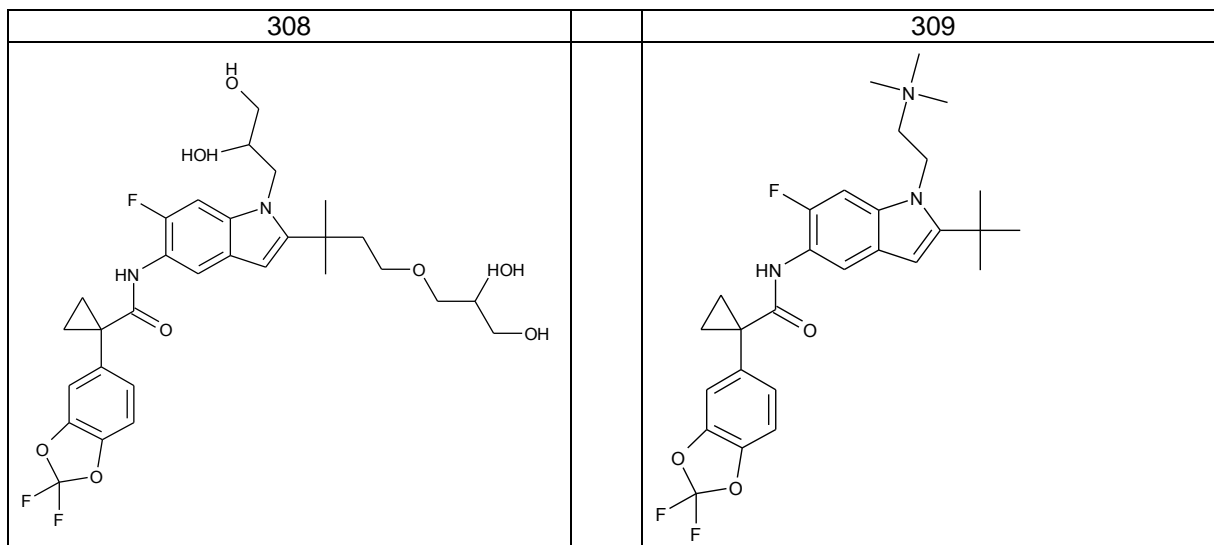
Існує потреба в способах модуляції активності ABC-транспортера в *ex vivo* клітинній мембрані ссавця.

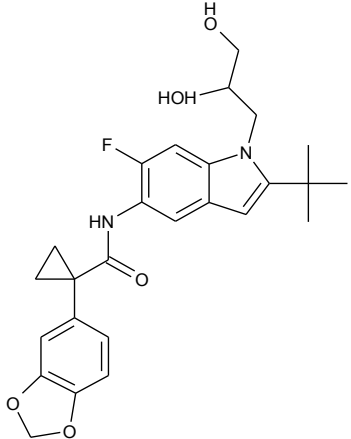
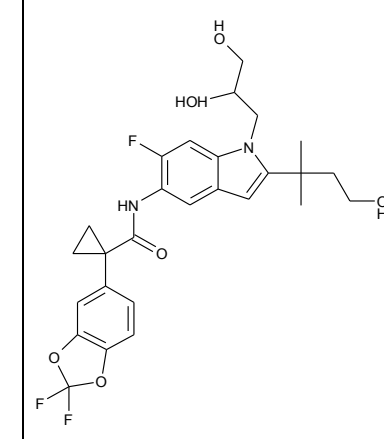
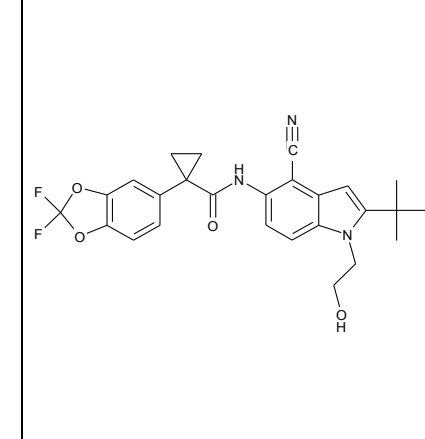
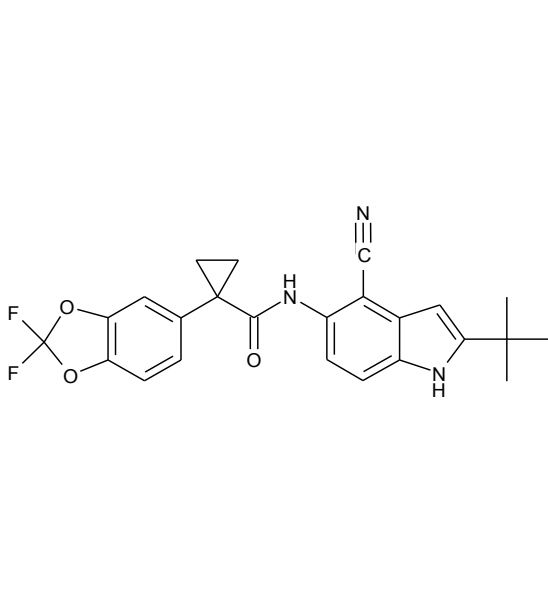
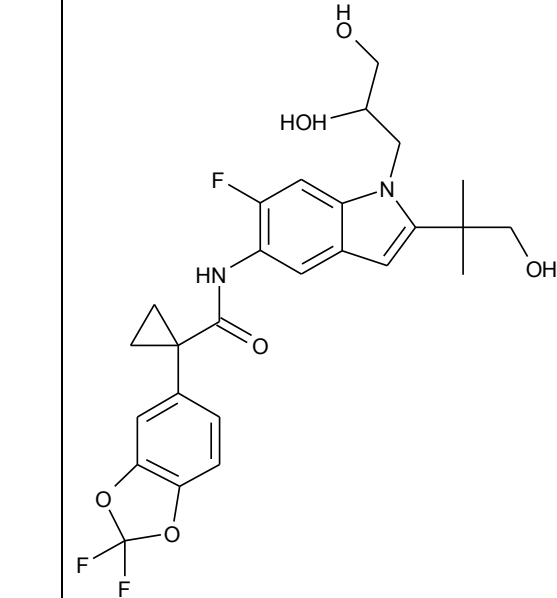
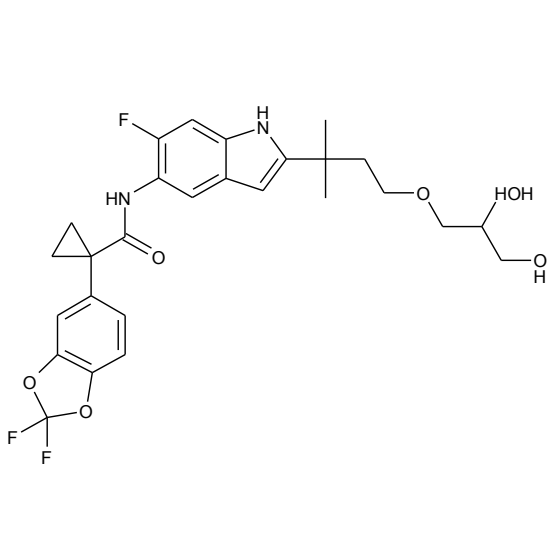
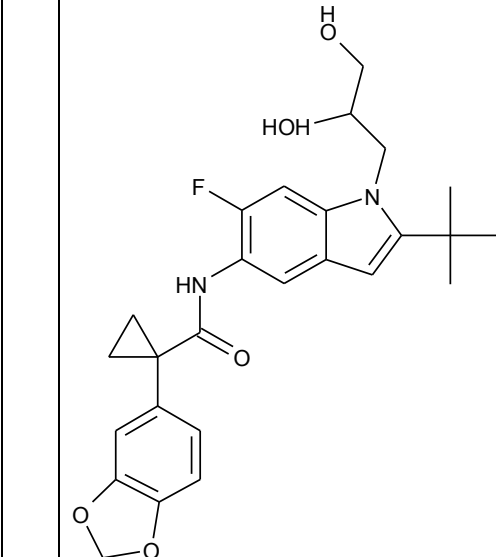
Існує потреба в модуляторах активності CFTR, які можуть бути використані для модуляції активності CFTR в клітинній мембрані ссавця.

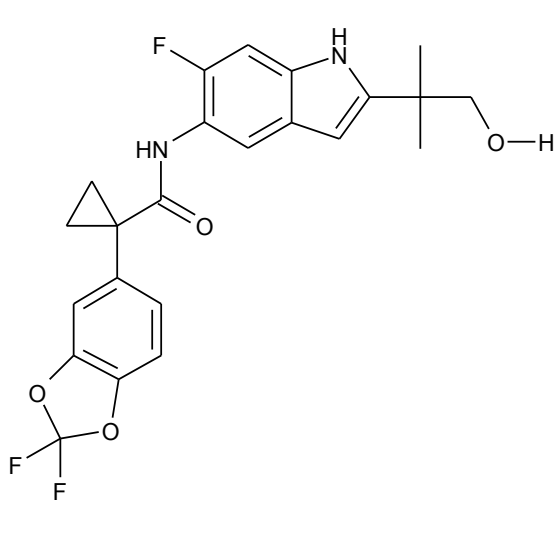
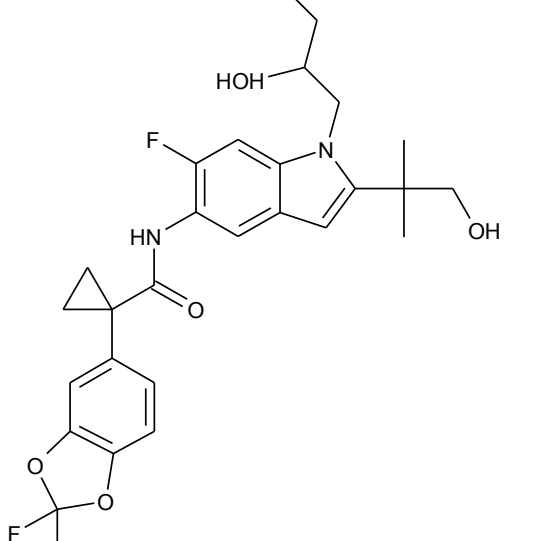
Існує потреба в способах лікування CFTR-опосередкованих захворювань, що використовують такі модулятори активності CFTR.

Існує потреба в способах модуляції активності CFTR в *ex vivo* клітинній мембрані ссавця.

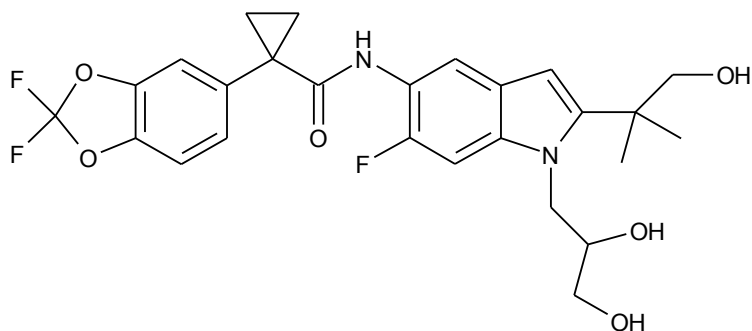
Авторами даного винаходу було виявлено, що сполуки за даним винаходом і фармацевтично прийнятні композиції, що їх містять, є корисними як модулятори активності ABC-транспортів, зокрема, активності CFTR. Ці сполуки являють собою



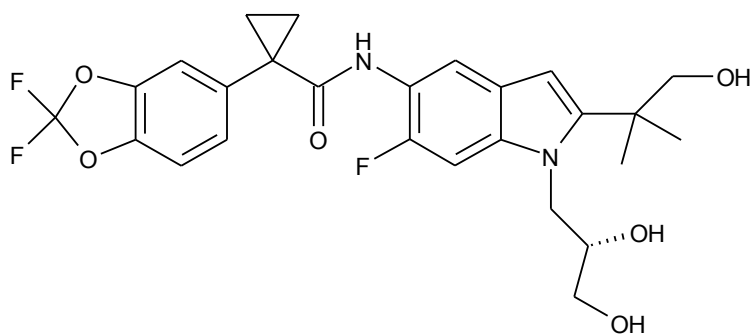
310			311			312
						
313						315
						
316						318
						

320		322
	i	

У деяких варіантах сполука являє собою

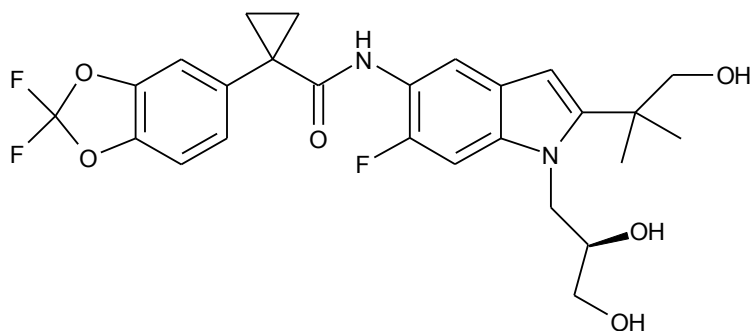


В інших варіантах сполука являє собою



5

У наступних варіантах сполука являє собою



Сполуки і фармацевтично прийнятні композиції використовують для лікування або



пом'якшення ступеню тяжкості цілого ряду захворювань, розладів або станів, включаючи, але ними не обмежуючись, муковісцидоз, спадкову емфізему, спадковий гемохроматоз, недостатність факторів згортання крові і фібринстабілізуєчого фактора, такі як дефіцит білка C, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, дефекти в процесингу ліпідів, такі як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абеталіпопротеїнемія, лізосомні хвороби, такі як хвороба клітинних включень/псевдо-Хурлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Кріглера-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет, карликовість Ларина, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпопаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреоїдизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (di), нейрофізіологічний, нефрогенний, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деякі неврологічні порушення, пов'язані з обміном поліглутаміну, такі як хвороба Гсінтінтона, спинномозкова атаксія I типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідольоїсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчасті енцефалопатії, такі як спадкова хвороба Крейтцфельда-Якоба, хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих очей і синдром Шегрена.

Несподівано було виявлено, що сполуки за даним винаходом мають терапевтично корисні властивості.

#### I Визначення

У даному описі, якщо не обумовлено інакше, використовуються нижченаведені визначення.

Термін "ABC-транспорт", що використовується в даному описі, означає білок ABC-транспортера або його фрагмент, що містить щонайменше один зв'язуючий домен, і цей вищезгаданий білок або його фрагмент присутній *in vivo* або *in vitro*. Термін "зв'язуючий домен", що використовується в даному описі, означає домен на ABC-транспортері, який може зв'язуватися з модулятором. Див., наприклад, Hwang, T.C. et al., J. Gen. Physiol. (1998): 111(3), 477-90.

Термін "CFTR", що використовується в даному описі, означає регулятор трансмембранної провідності при муковісцидозі або його мутацію, здатний регулювати активність, що включає, але не обмежуючись ними,  $\Delta F508$  CFTR і G551D CFTR (див., наприклад, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>, для мутацій CFTR).

Термін "модуляція", що використовується в даному описі, означає збільшення або зменшення, наприклад, активність на вимірювану величину. Сполуки, які модулюють активність ABC-транспортера, таку як активність CFTR, збільшуючи активність ABC-транспортера, наприклад, аніонного каналу CFTR, називають агоністами. Сполуки, які моделюють активність ABC-транспортера, таку як активність CFTR, знижуючи активність ABC-транспортера, наприклад, аніонного каналу CFTR, називають антагоністами. Агоніст взаємодіє з ABC-транспортером, таким як аніонний канал CFTR, підвищуючи здатність рецептора передавати внутрішньоклітинний сигнал у відповідь на зв'язування ендogenousного ліганду. Антагоніст взаємодіє з ABC-транспортером, таким як аніонний канал CFTR, і конкурує з ендogenousним лігандом(ами) або субстрат(ами) за сайт(и) зв'язування на рецепторі, знижуючи тим самим здатність рецептора передавати внутрішньоклітинний сигнал у відповідь на зв'язування ендogenousного ліганду.

Вираз "лікування або зниження ступеню тяжкості захворювання, опосередкованого ABC-транспортером" належить як до лікувань захворювань, які безпосередньо викликані активністю ABC-транспортера і/або CFTR, так і пом'якшення симптомів плинного захворювань, не викликаних безпосередньо активністю ABC-транспортерів і/або аніонного каналу CFTR. Приклади захворювань, симптоми яких можуть зазнавати впливу активності ABC-транспортера і/або CFTR, включають, але не обмежуючись ними, муковісцидоз, спадковою емфізему, спадковим гемохроматоз, недостатність факторів згортання крові і фібринстабілізуєчого фактора, такі як дефіцит білка C, спадковий ангіоневротичний набряк типу 1, дефекти в процесингу ліпідів, такі як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абеталіпопротеїнемія, лізосомні хвороби, такі як хвороба клітинних включень/псевдо-Хурлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Кріглера-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет, карликовість Ларона, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпопаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреоїдизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (DI), нейрофізіологічний DI, нефрогенний DI, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба

Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деякі неврологічні порушення, пов'язані з обміном поліглютаміну, такі як хвороба Гентінгтона, спинномозкова атаксія 1 типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідокульова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчасті енцефалопатії, такі як спадкова хвороба Крейтцфельда-Якоба, хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих очей і синдром Шегрена.

Для цього винаходу хімічні елементи ідентифіковані відповідно до Періодичної системи хімічних елементів, CAS версія, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Крім того, загальні принципи органічної хімії описані в "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, and "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, повний зміст яких тим самим включений в даний опис у вигляді посилання.

Як описано в даному описі, сполуки за даним винаходом можуть бути необов'язково заміщені одним або декількома замісниками, такими як ілюстровані в загальних рисах вище або представлені конкретними класами, підкласами і різновидом даного винаходу.

Термін "аліфатик", що використовується в даному описі, охоплює терміни "алкіл", "алкеніл", "алкініл", кожний з яких є необов'язково заміщеним, як викладено нижче.

Як використовується в даному описі, "алкільна" група належить до насиченої аліфатичної вуглецевої групи, що містить 1-12 (наприклад, 1-8, 1-6 або 1-4) вуглецевих атомів, алкільна група може бути прямою або розгалуженою. Приклади алкільної групи включають, але цим не обмежуючись, метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, втор-бутіл, трет-бутіл, н-пептил, н-гептил або 2-етилгексил. Алкільна група може бути заміщеною (тобто необов'язково заміщеною) одним або декількома замісниками, такими як галоген, фосфо, циклоаліфатичний замісник [наприклад, циклоалкіл або циклоалкеніл], гетероциклоаліфатичний замісник [наприклад, гетероциклоалкіл або гетероциклоалкеніл], арил, гетероарил, алкокси, ароїл, гетероароїл, ацил [наприклад, (аліфатик)карбоніл, (циклоаліфатик)карбоніл або (гетероциклоаліфатик)карбоніл], нітро, ціано, амід [наприклад, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (гетероциклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно, гетероаралкілкарбоніламіно, алкіламінокарбоніл, циклоалкіламінокарбоніл, гетероциклоалкіламінокарбоніл, ариламінокарбоніл або гетероариламінокарбоніл], аміно [наприклад, аліфатикаміно, циклоаліфатикаміно або гетероциклоаліфатикаміно], сульфоніл [наприклад, аліфатик-SO<sub>2</sub>-], сульфініл, сульфаніл, сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфоамід, сульфамід, оксо, карбокси, карбамоїл, циклоаліфатикокси, гетероциклоаліфатикокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, гетероарилалкокси, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси або гідрокси. Без обмеження, деякі приклади заміщених алкілів включають карбоксіалкіл (такий як HOOC-алкіл, алкоксикарбонілалкіл і алкілкарбонілоксіалкіл), ціаноалкіл, гідроксіалкіл, алкоксіалкіл, ацилалкіл, аралкіл, (алкоксіарил)алкіл, (сульфоніламіно)алкіл (такий як (алкіл-SO<sub>2</sub>-аміно)алкіл), аміноалкіл, амідолалкіл, (циклоаліфатик)алкіл або галогеналкіл.

Як використовується в даному описі, "алкенільна" група належить до аліфатичної вуглецевої групи, яка містить 2-8 (наприклад, 2-12, 2-6 або 2-4) вуглецевих атомів і щонайменше один подвійний зв'язок. Подібно до алкільної групи, алкенільна група може бути прямою або розгалуженою. Приклади алкенільної групи включають, але ними не обмежуючись, аліл, ізопреніл, 2-бутеніл і 2-гексеніл. Алкенільна група може бути необов'язково заміщена одним або декількома замісниками, такими як галоген, фосфо, циклоаліфатичний замісник [наприклад, циклоалкіл або циклоалкеніл], гетероциклоаліфатик [наприклад, гетероциклоалкіл або гетероциклоалкеніл], арил, гетероарил, алкокси, ароїл, гетероароїл, ацил [наприклад, (аліфатик)карбоніл, (циклоаліфатик)карбоніл або (гетероциклоаліфатик)карбоніл], нітро, ціано, амід [наприклад, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (гетероциклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно, гетероаралкілкарбоніламіно, алкіламінокарбоніл, циклоалкіламінокарбоніл, гетероциклоалкіламінокарбоніл, ариламінокарбоніл або гетероариламінокарбоніл], аміно [наприклад, аліфатикаміно, циклоаліфатикаміно, гетероциклоаліфатикаміно або аліфатиксульфоніламіно], сульфоніл [наприклад, алкіл-SO<sub>2</sub>-, циклоаліфатик-SO<sub>2</sub>- або арил-SO<sub>2</sub>-], сульфініл, сульфаніл, сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфоамід, сульфамід, оксо, карбокси, карбамоїл, циклоаліфатикокси, гетероциклоаліфатикокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, гетероаралкокси, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси або гідрокси. Без обмеження, деякі приклади заміщених алкенілів включають ціаноалкеніл, алкоксіалкеніл, ацилалкеніл, гідроксіалкеніл, аралкеніл,

(алкоксиарил)алкеніл, (сульфоніламіно)алкеніл (такий як (алкіл-SO<sub>2</sub>-аміно)алкеніл), аміноалкеніл, амідолалкеніл, (циклоаліфатик)алкеніл або галогеналкеніл.

Термін "алкінільна" група, що використовується в даному описі, належить до аліфатичної вуглецевої групи, яка містить 2-8 (наприклад, 2-12, 2-6 або 2-4) вуглецевих атомів і має щонайменше один потрібний зв'язок. Алкінільна група може бути прямою або розгалуженою. Приклади алкінільної групи включають, але ними не обмежуються, пронаргіл і бутиніл. Алкінільна група може бути необов'язково заміщеною одним або декількома замісниками, такими як ароїл, гетероароїл, алкокси, циклоалкілокси, гетероциклоалкілокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, нітро, карбокси, ціано, галоген, гідрокси, сульфо, меркапто, сульфаніл [наприклад, аліфатиксульфаніл або циклоаліфатиксульфаніл], сульфініл [наприклад, аліфатиксульфініл або циклоаліфатиксульфініл], сульфоніл [наприклад, аліфатик-SO<sub>2</sub>-, аліфатикаміно-SO<sub>2</sub>- або циклоаліфатик-SO<sub>2</sub>-], амідол [наприклад, амінокарбоніл, алкіламінокарбоніл, алкілкарбоніламіно, циклоалкіламінокарбоніл, гетероциклоалкіламінокарбоніл, циклоалкілкарбоніламіно, ариламінокарбоніл, арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероаралкілкарбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно або гетероариламінокарбоніл], сечовина, тіосечовина, сульфамойл, сульфамід, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси, циклоаліфатичний замісник, гетероциклоаліфатичний замісник, арил, гетероарил, ацил [наприклад, (циклоаліфатик)карбоніл або (гетероциклоаліфатик)карбоніл], аміно [наприклад, аліфатикаміно], сульфокси, оксо, карбокси, карбамоїл, (циклоаліфатик)окси, (гетероциклоаліфатик)окси або (гетероарил)алкокси.

Термін "амідол", що використовується в даному описі, охоплює як "амінокарбоніл", так і "карбоніламіно". Ці терміни, при використанні поодиночі або в зв'язку з іншою групою, належать до амідогрупи, такої як -N(R<sup>x</sup>)-C(O)-R<sup>y</sup> або -C(O)-N(R<sup>x</sup>)<sub>2</sub>, при використанні на кінці, і -C(O)-N(R<sup>x</sup>)- або -N(R<sup>x</sup>)-C(O)- при використанні всередині, в якій R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> такі, як визначені нижче. Приклади амідол груп включають алкіламідо (таку як алкілкарбоніламіно або алкіламінокарбоніл), (гетероциклоаліфатик)амідол, (гетероаралкіл)амідол, (гетероарил)амідол, (гетероциклоалкіл)алкіламідо, ариламідо, аралкіламідо, (циклоалкіл)алкіламідо або циклоалкіламідо.

Термін "аміно" група, що використовується в даному описі, належить до -NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>, в якій кожний з R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> являє собою незалежно водень, аліфатичну групу, циклоаліфатичну групу, (циклоаліфатик)аліфатичну групу, арил, араліфатичну групу, гетероциклоаліфатичну групу, (гетероциклоаліфатик)аліфатичну групу, гетероарил, карбокси, сульфаніл, сульфініл, сульфоніл, (аліфатик)карбоніл, (циклоаліфатик)карбоніл, (циклоаліфатикаліфатик)карбоніл, арилкарбоніл, (араліфатик)карбоніл, (гетероциклоаліфатик)карбоніл, (гетероциклоаліфатикаліфатик)карбоніл, (гетероарил)карбоніл або (гетероараліфатик)карбоніл, при цьому кожна з них є визначеною в даному описі і необов'язково заміщеною. Приклади аміногруп включають алкіламіно, діалкіламіно або ариламіно. Якщо термін "аміно" не є кінцевою групою (наприклад, алкілкарбоніламіно), то він представляється групою -NR<sup>x</sup>-. R<sup>x</sup> має таке ж визначення, як визначене вище.

Термін "арильна" група, що використовується в даному описі, який використовується поодиночі або як частина більшої складаючої групи як у випадку "аралкіл", "аралкокси" або "арилоксиалкіл", належить до моноциклічних (наприклад, феніл); біциклічних (наприклад, інденіл, нафталініл, тетрагідронафтил, тетрагідроінденіл); і трициклічних (наприклад, флуореніл, тетрагідрофлуореніл або тетрагідроантраценіл, антраценіл) структур, в яких моноциклічна структура є ароматичною або в яких щонайменше один з циклів в біциклічній або трициклічній структурі є ароматичним. Біциклічні і трициклічні групи включають бензоконденсовані 2-3-членні карбоциклічні структури. Наприклад, бензоконденсована група включає феніл, конденсований з двома або більшою кількістю C<sub>4-6</sub> карбоциклічних частин. Арил є необов'язково заміщеним одним або декількома замісниками, включаючи аліфатичний [наприклад, алкіл, алкеніл або алкініл]; циклоаліфатичний; (циклоаліфатик)аліфатик; гетероциклоаліфатик; (гетероциклоаліфатик)аліфатик; арил; гетероарил; алкокси; (циклоаліфатик)окси; (гетероциклоаліфатик)окси; арилокси; гетероарилокси; (араліфатик)окси; (гетероараліфатик)окси; ароїл; гетероароїл; аміно; оксо (на неароматичному карбоциклі бензоконденсованого біциклічного або трициклічного арилу); нітро; карбокси; амідол; ацил [наприклад, (аліфатик)карбоніл; (циклоаліфатик)карбоніл; ((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніл; (араліфатик)карбоніл; (гетероциклоаліфатик)карбоніл; ((гетероциклоаліфатик)аліфатик)карбоніл; або (гетероараліфатик)карбоніл]; сульфоніл [наприклад, аліфатик-SO<sub>2</sub>- або аміно-SO<sub>2</sub>-]; сульфініл [наприклад, аліфатик-S(O)- або циклоаліфатик-S(O)-]; сульфаніл [наприклад, аліфатик-S-]; ціано; галоген; гідрокси; меркапто;

сульфокси; сечовина; тіосечовина; сульфоаміол; сульфамід; або карбамоіл. Альтернативно, арил може бути незаміщеним.

Необмежувальні приклади заміщених арилів включають галогенарил [наприклад, моно-, ди- (такі як п,м-дигалогенарил), і (тригалоген)арил]; (карбокси)арил [наприклад, (алкоксикарбоніл)арил, (аралкілкарбонілокси)арил і (алкоксикарбоніл)арил]; (амідо)арил [наприклад, (амінокарбоніл)арил, (((алкіламіно)алкіл)амінокарбоніл)арил, (алкілкарбоніл)аміноарил, (ариламінокарбоніл)арил і (((гетероарил)аміно)карбоніл)арил]; аміноарил [наприклад, ((алкілсульфоніл)аміно)арил або ((діалкіл)аміно)арил]; (ціаноалкіл)арил; (алкокси)арил; (сульфоаміол)арил [наприклад, (аміносульфоніл)арил]; (алкілсульфоніл)арил; (ціано)арил; (гідроксіалкіл)арил; ((алкокси)алкіл)арил; (гідроксі)арил, (карбокси)алкіл)арил; (((діалкіл)аміно)алкіл)арил; (нітроалкіл)арил; (((алкілсульфоніл)аміно)алкіл)арил; ((гетероциклоаліфатик)карбоніл)арил; ((алкілсульфоніл)алкіл)арил; (ціаноалкіл)арил; (гідроксіалкіл)арил; (алкілкарбоніл)арил; алкіларил; (тригалогеналкіл)арил; п-аміно-м-алкоксикарбоніларил; п-аміно-м-ціаноарил; п-галоген-м-аміноарил; або (м-(гетероциклоаліфатик)-о-(алкіл)арил.

Термін "араліфатик", що використовується в даному описі, такий як "аралкільна" група, належить до аліфатичної групи (наприклад, C<sub>1-4</sub>алкільна група), яка заміщена арильною групою. "Аліфатик", "алкіл" і "арил" такі, як визначені в даному описі. Прикладом араліфатичної групи, такої як аралкільна група, є бензил.

Термін "аралкільна" група, що використовується в даному описі, належить до алкільної групи (наприклад, C<sub>1-4</sub>алкільна група), яка заміщена арильною групою. Як "алкіл", так і "арил" були визначені вище. Прикладом аралкільної групи є бензил. Аралкіл є необов'язково заміщеним одним або декількома замісниками, такими як аліфатична група [наприклад, алкіл, алкеніл або алкініл, включаючи карбоксиалкіл, гідроксіалкіл або галогеналкіл, такий як трифторметил], циклоаліфатик [наприклад, циклоалкіл або циклоалкеніл], (циклоалкіл)алкіл, гетероциклоалкіл, (гетероциклоалкіл)алкіл, арил, гетероарил, алкокси, циклоалкілокси, гетероциклоалкілокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, гетероаралкілокси, ароїл, гетероароїл, нітро, карбокси, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси, амідо [наприклад, амінокарбоніл, алкілкарбоніламіно, циклоалілкарбоніламіно, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (гетероциклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно або гетероаралкілкарбоніламіно], ціано, галоген, гідрокси, ацил, меркапто, алкілсульфаніл, сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфоаміол, сульфамід, оксо або карбамоіл.

Термін "біциклічна структура", що використовується в даному описі, включає 8-12 (наприклад, 9-, 10- або 11)-членні структури, які утворюють два цикли, в яких два цикли мають щонайменше один атом спільно (наприклад, 2 атоми спільно). Біциклічні структури включають біциклоаліфатичні структури (наприклад, біциклоалкід або біциклоалкеніл), біциклогетероаліфатичні структури, біциклічні арили і біциклічні гетероарили.

Як використовується в даному описі, "карбоцикл" або "циклоаліфатична" група охоплює "циклоалкільну" групу і "циклоалкенільну" групу, причому кожна з них є необов'язково заміщеною, як викладено нижче.

Як використовується в даному описі, "циклоалкільна" група належить до насиченої карбоциклічної моно- або біциклічної (конденсованої або з'єднаної місточковим зв'язком) структури з 3-10 (наприклад, 5-10) вуглецевих атомів. Приклади циклоалкільних груп включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, адамантил, норборніл, кубіл, октагідроінденіл, декагідронафтил, біцикло[3.2.1]октил, біцикло[2.2.2]октил, біцикло[3.3.1]ноніл, біцикло[3.3.2]децил, біцикло[2.2.2]октил, адамантил або ((амінокарбоніл)циклоалкіл)циклоалкіл.

"Циклоалкенільна" група, що використовується в даному описі, належить до неароматичної карбоциклічної структури з 3-10 (наприклад, 4-8) вуглецевих атомів, що має один або декілька подвійних зв'язків. Приклади циклоалкенільних груп включають циклопентеніл, 1,4-циклогексадієніл, циклогептеніл, циклооктеніл, гексагідроінденіл, октагідронафтил, циклогексеніл, циклопентеніл, біцикло[2.2.2]октеніл або біцикло[3.3.1]ноненіл.

Циклоалкільна або циклоалкенільна група може бути необов'язково заміщеною одним або декількома замісниками, такими як фосфор, аліфатична група [наприклад, алкіл, алкеніл або алкініл], циклоаліфатична група, (циклоаліфатик)аліфатик, гетероциклоаліфатик, (гетероциклоаліфатик)аліфатик, арил, гетероарил, алкокси, (циклоаліфатик)окси, (гетероциклоаліфатик)окси, арилокси, гетероарилокси, (араліфатик)окси, (гетероараліфатик)окси, ароїл, гетероароїл, аміно, амідо [наприклад, (аліфатик)карбоніламіно, (циклоаліфатик)карбоніламіно, ((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніламіно, (арил)карбоніламіно, (араліфатик)карбоніламіно, (гетероциклоаліфатик)карбоніламіно, ((гетероцикло-

аліфатик)аліфатик)карбоніламіно, (гетероарил) карбоніламіно, або  
(гетероараліфатик)карбоніламіно], нітро, карбокси [наприклад, HOOC-, алкоксикарбоніл або  
алкілкарбонілокси], ацил [наприклад, (циклоаліфатик)карбоніл,  
((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніл, (араліфатик)карбоніл, (гетероциклоаліфатик)карбоніл,  
5 ((гетероциклоаліфатик)аліфатик)карбоніл або (гетероараліфатик)карбоніл], ціано, галоген,  
гідрокси, меркапто, сульфоніл [наприклад, алкіл-SO<sub>2</sub>- і арил-SO<sub>2</sub>-], сульфініл [наприклад, алкіл-  
S(O)-], сульфаніл [наприклад, алкіл-S-], сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфоаміол,  
сульфамід, оксо, або карбамоїл.

Термін "гетероцикл" або "гетероциклоаліфатик", що використовується в даному описі,  
10 охоплює гетероциклоалкільну групу і гетероциклоалкенільну групу, при цьому кожна з них є  
необов'язково заміщеною, як викладено нижче.

Термін, що використовується в даному описі "гетероциклоалкільна" група належить до 3-10-  
членної моно- або біциклічної (конденсованої або з'єднаної місточковим зв'язком) (наприклад, 5-  
10-членна моно- або біциклічна) насиченої структури, в якій один або декілька з циклічних  
15 атомів являють собою гетероатом (наприклад, N, O, S або їх комбінацію). Приклади  
гетероциклоалкільної групи включають піперидил, піперазил, тетрагідропіраніл,  
тетрагідрофурил, 1,4-діоксоланіл, 1,4-дитіаніл, 1,3-діоксоланіл, оксазолідил, ізоксазолідил,  
морфолініл, тіоморфоліл, октагідробензофурил, октагідрохроменіл, октагідротіохроменіл,  
октагідроіндоліл, октагідропіридиніл, декагідрохінолініл, октагідробензо[b]тіофеніл, 2-окса-  
20 біцикло[2.2.2]октил, 1-аза-біцикло[2.2.2]октил, 3-аза-біцикло[3.2.1]октил і 2,6-діокса-  
трицикло[3.3.1.0<sup>3,7</sup>]ноніл. Моноциклічна гетероциклоалкільна група може бути конденсована з  
фенільною частиною з утворенням структур, таких як тетрагідроізохінолін, які можна  
класифікувати як гетероарили.

Термін "гетероциклоалкенільна" група, що використовується в даному описі, належить до  
25 моно- або біциклічної (наприклад, 5-10-членна моно- або біциклічна) неароматичної структури,  
що містить один або декілька подвійних зв'язків, і в якій один або декілька з циклічних атомів  
являють собою гетероатом (наприклад, N, O або S). Моноциклічні і біциклічні  
гетероциклоаліфатичні структури нумерують згідно зі стандартною хімічною номенклатурою.

Гетероциклоалкільна або гетероциклоалкенільна група може бути необов'язково заміщена  
30 одним або декількома замісниками, такими як фосфор, аліфатична група [наприклад, алкіл,  
алкеніл або алкініл], циклоаліфатична група, (циклоаліфатик)аліфатична група,  
гетероциклоаліфатична група, (гетероциклоаліфатик)аліфатична група, арил, гетероарил,  
алкокси, (циклоаліфатик)окси, (гетероциклоаліфатик)окси, арилокси, гетероарилокси,  
(араліфатик)окси, (гетероараліфатик)окси, ароїл, гетероароїл, аміно, амід [наприклад,  
35 (аліфатик)карбоніламіно, (циклоаліфатик)карбоніламіно,  
((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніламіно, (арил)карбоніламіно, (араліфатик)карбоніламіно,  
(гетероциклоаліфатик)карбоніламіно, ((гетероциклоаліфатик)аліфатик)карбоніламіно,  
(гетероарил)карбоніламіно або (гетероарилаліфатик)карбоніламіно], нітро, карбокси  
[наприклад, HOOC-, алкоксикарбоніл або алкілкарбонілокси], ацил [наприклад,  
40 (циклоаліфатик)карбоніл, ((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніл, (араліфатик)карбоніл,  
(гетероциклоаліфатик)карбоніл, ((гетероциклоаліфатик)аліфатик)карбоніл або  
(гетероараліфатик)карбоніл], нігро, ціано, галоген, гідрокси, меркапто, сульфоніл [наприклад,  
алкілсульфоніл або арилсульфоніл], сульфініл [наприклад, алкілсульфініл], сульфаніл  
[наприклад, алкілсульфаніл], сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфоаміол, сульфамід, оксо  
45 або карбамоїл.

Термін "гетероарильна" група, що використовується в даному описі, належить до  
моноциклічної, біциклічної або трициклічної структури, що містить від 4 до 15 атомів в циклічній  
структурі, в якій один або декілька з циклічних атомів являють собою гетероатом (наприклад, N,  
O, S або їх комбінацію) і в якій моноциклічна структура є ароматичною або в якій щонайменше  
50 один з циклів в біциклічній або трициклічній структурі є ароматичним, гетероарильна група  
включає бензоконденсовану циклічну структуру, що містить від 2 до 3 циклів. Наприклад,  
бензоконденсована група включає бензо, конденсований з однією або двома 4-8-членними  
гетероциклоаліфатичними складовими частинами (наприклад, індолізил, індоліл, ізоіндоліл, 3Н-  
індоліл, індолініл, бензо[b]фурил, бензо[b]тіофеніл, хінолініл або ізохінолініл). Деякі приклади  
55 гетероарилу являють собою азетидипіл, піридил, 1Н-індазоліл, фурил, піроліл, тієніл, тіазоліл,  
оксазоліл, імідазоліл, тетразоліл, бензофурил, ізохінолініл, бензтіазоліл, ксантен, тіоксантен,  
фенотіазин, дигідроіндол, бензо[1,3]діоксол, бензо[b]фурил, бензо[b]тіофеніл, індазоліл,  
бензімідазоліл, бензтіазоліл, пурил, циноліл, хіноліл, хіназоліл, циноліл, фталазил, хіназоліл,  
хіноксаліл, ізохіноліл, 4Н-хінолізил, бензо-1,2,5-тіадіазоліл або 1,8-нафтиридил.

Без обмеження, моноциклічні гетероарили включають фурил, тіофеніл, 2Н-піроліл, піроліл,

оксазоліл, тазоліл, імідазоліл, піразоліл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, 1,3,4-тіадіазоліл, 2Н-піраніл, 4Н-праніл, піридил, піридазил, піримідил, піразоліл, піразил або 1,3,5-триазил. Моноциклічні гетероарили нумерують згідно зі стандартною хімічною номенклатурою.

Без обмеження, біциклічні гетероарили включають індолізил, індоліл, ізоіндоліл, 3Н-індоліл, 5 індолініл, бензо[*b*]фурил, бензо[*b*]тіофеніл, хінолініл, ізохінолініл, індолізиніл, ізоіндоліл, індоліл, бензо[*b*]фурил, бензо[*b*]тіофеніл, індазоліл, бензімідазил, бензтіазоліл, пуриніл, 4Н-хінолізил, хіноліл, ізохіноліл, циноліл, фталазил, хіназоліл, хіноксаліл, 1,8-нафтиридил або птеридил. Біциклічні гетероарили нумерують згідно зі стандартною хімічною номенклатурою.

Гетероарил є необов'язково заміщеним одним або декількома замісниками, такими як 10 аліфатична група [наприклад, алкіл, алкеніл або алкініл]; циклоаліфатична група; (циклоаліфатик)аліфатична група; гетероциклоаліфатична група; (гетероциклоаліфатик)аліфатична група; арил; гетероарил; алкокси; (циклоаліфатик)окси; (гетероциклоаліфатик)окси; арилокси; гетероарилокси; (араліфатик)окси; (гетероараліфатик)окси; ароїл; гетероароїл; аміно; оксо (на неароматичному карбоциклі або 15 гетероциклі біциклічного або трициклічного гетероарилу); карбокси; амід; ацил [наприклад, аліфатиккарбоніл; (циклоаліфатик)карбоніл; ((циклоаліфатик)аліфатик)карбоніл; (араліфатик)карбоніл; (гетероциклоаліфатик)карбоніл; ((гетероциклоаліфатик)аліфатик)карбоніл; або (гетероараліфатик)карбоніл]; сульфоніл [наприклад, аліфатиксульфоніл або аміносульфоніл]; сульфініл [наприклад, аліфатиксульфініл]; 20 сульфаніл [наприклад, аліфатиксульфаніл]; нітро; ціано; галоген; гідрокси; меркапто; сульфокси; сечовина; тіосечовина; сульфамойл; сульфамід; або карбамоїл. Альтернативно, гетероарил може бути незаміщеним.

Необмежувальні приклади заміщених гетероарилів включають (галоген)гетероарил [наприклад, моно- і ди-(галоген)гетероарил]; (карбокси)гетероарил [наприклад, 25 (алкоксикарбоніл)гетероарил]; ціаногетероарил; аміногетероарил [наприклад, ((алкілсульфоніл)аміно)гетероарил і ((діалкіл)аміно)гетероарил]; (амід)гетероарил [наприклад, амінокарбонілгетероарил, ((алкіл карбоніл)аміно)гетероарил, (((алкіл)аміно)алкіл)амінокарбонілгетероарил, (((гетероарил)аміно)карбоніл)гетероарил, ((гетероциклоаліфатик)карбоніл)гетероарил і ((алкілкарбоніл)аміно)гетероарил]; 30 (ціаноалкіл)гетероарил; (алкокси)гетероарил; (сульфамойл)гетероарил [наприклад, (аміносульфоніл)гетероарил]; (сульфоніл)гетероарил [наприклад, (алкілсульфоніл)гетероарил]; (гідроксіалкіл)гетероарил; (алкоксіалкіл)гетероарил; (гідрокси)гетероарил; ((карбокси)алкіл)гетероарил; ((діалкіл)аміно)алкіл]гетероарил; (гетероциклоаліфатик)гетероарил; (циклоаліфатик)гетероарил; (нітроалкіл)гетероарил; 35 (((алкілсульфоніл)аміно)алкіл)гетероарил; ((алкілсульфоніл)алкіл)гетероарил; (ціаноалкіл)гетероарил; (ацил)гетероарил [наприклад, (алкілкарбоніл)гетероарил]; (алкіл)гетероарил і (галогеналкіл)гетероарил [наприклад, тригалогеналкілгетероарил].

Термін "гетероараліфатик", що використовується в даному описі (такий як гетероаралкільна група) належить до аліфатичної групи (наприклад, C<sub>1-4</sub>алкільна група), яка заміщена 40 гетероарильною групою. "Аліфатик", "алкіл" і "гетероарил" були визначені вище.

Термін "гетероаралкільна" група, що використовується в даному описі, належить до алкільної групи (наприклад, C<sub>1-4</sub>алкільна група), яка заміщена гетероарильною групою. Як "алкіл", так і "гетероарил" були визначені вище. Гетероаралкіл є необов'язково заміщеним 45 одним або декількома замісниками, такими як алкіл (включаючи карбоксіалкіл, гідроксіалкіл і галогеналкіл, такий як трифторметил), алкеніл, алкініл, циклоалкіл, (циклоалкіл)алкіл, гетероциклоалкіл, (гетероциклоалкіл)алкіл, арил, гетероарил, алкокси, циклоалкілокси, гетероциклоалкілокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, гетероаралкілокси, ароїл, гетероароїл, нітро, карбокси, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси, амінокарбоніл, алкілкарбоніламіно, циклоалкілкарбоніламіно, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, 50 арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (гетероциклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно, гетероаралкілкарбоніламіно, ціано, галоген, гідрокси, ацил, меркапто, алкілсульфаніл, сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфамойл, сульфамід, оксо або карбамоїл.

Терміни "циклічна частина" і "циклічна група", що використовуються в даному описі, 55 належать до моно-, бі- і трициклічних структур, включаючи циклоаліфатичну, гетероциклоаліфатичну структуру, арил або гетероарил, кожна з яких була визначена раніше.

Термін "біциклічна структура з внутрішнім місточком", що використовується в даному описі, належить до біциклічної гетероциклоаліфатичної структури або біциклічної циклоаліфатичної структури, в якій цикли з'єднані місточковим зв'язком. Приклади біциклічних структур з 60 внутрішнім місточком включають, але не обмежуючись ними, адамантаніл, норборнаніл,

біцикло[3.2.1]октил, біцикло[2.2.2]октил, біцикло[3.3.1]ноніл, біцикло[3.2.3]ноніл, 2-оксабіцикло[2.2.2]октил, 1-азабіцикло[2.2.2]октил, 3-азабіцикло[3.2.1]октил і 2,6-діоксатрицикло[3.3.1.0<sup>3,7</sup>]ноніл. Біциклічна структура з внутрішнім місточком може бути необов'язково заміщеною одним або декількома замісниками, такими як алкіл (включаючи карбоксіалкіл, гідроксіалкіл і галогеналкіл, такий як трифторметил), алкеніл, алкініл, циклоалкіл, (циклоалкіл)алкіл, гетероциклоалкіл, (гетероциклоалкіл)алкіл, арил, гетероарил, алкокси, циклоалкілокси, гетероциклоалкілокси, арилокси, гетероарилокси, аралкілокси, гетероаралкілокси, ароїл, гетероароїл, нітро, карбокси, алкоксикарбоніл, алкілкарбонілокси, амінокарбоніл, алкілкарбоніламіно, циклоалкілкарбоніламіно, (циклоалкілалкіл)карбоніламіно, арилкарбоніламіно, аралкілкарбоніламіно, (гетероциклоалкіл)карбоніламіно, (гетероциклоалкілалкіл)карбоніламіно, гетероарилкарбоніламіно, гетероаралкілкарбоніламіно, ціано, галоген, гідрокси, ацил, меркапто, алкілсульфаніл, сульфокси, сечовина, тіосечовина, сульфамойл, сульфамід, оксо або карбамоїл.

Термін "ацильна" група, що використовується в даному описі, належить до формільної групи або  $R^x-C(O)-$  (такої як алкіл- $C(O)-$ , також званої "алкілкарбоніл"), де  $R^x$  і "алкіл" були визначені раніше. Ацетил і пивалоїл є прикладами ацильних груп.

Термін "ароїл" або "гетероароїл", що використовується в даному описі, належить до арил- $C(O)-$  або гетероарил- $C(O)-$ . Арильна і гетероарильна частина ароїлу або гетероароїлу є необов'язково заміщеною, як визначено раніше.

Термін "алкокси" група, що використовується в даному описі, належить до алкіл- $O-$  групи, де "алкіл" був визначений раніше.

Термін "карбамоїльна" група, що використовується в даному описі, належить до групи, що має структуру  $-O-CO-NR^xR^y$  або  $-NR^x-CO-O-R^z$ , в якій  $R^x$  і  $R^y$  були визначені вище і  $R^z$  може бути аліфатичною групою, арилом, араліфатичною групою, гетероциклоаліфатичною групою, гетероарилом або гетероараліфатичною групою.

Термін "карбокси" група, що використовується в даному описі, належить до  $-COOH$ ,  $-COOR^x$ ,  $-OC(O)H$ ,  $-OC(O)R^x$ , при використанні як кінцевої групи; або  $-OC(O)-$ , або  $-C(O)O-$  при використанні як внутрішньої групи.

Термін, що використовується в даному описі "галогеналіфатична" група належить до аліфатичної групи, заміщеної 1-3 галогенами. Наприклад, термін "галогеналкіл" включає групу  $-CF_3$ .

Термін "меркапто" група, що використовується в даному описі, належить до  $-SH$ .

Термін "сульфо" група, що використовується в даному описі, належить до  $-SO_3H$  або  $-SO_3R^x$  при використанні на кінці або  $-S(O)_3-$  при використанні всередині.

Термін "сульфамідна" група, що використовується в даному описі, належить до структури  $-NR^x-S(O)_2-NR^xR^z$  при використанні на кінці і  $-NR^x-S(O)_2-NR^y-$  при використанні всередині, де  $R^x$ ,  $R^y$  і  $R^z$  були визначені вище.

Термін "сульфонамідна" група, що використовується в даному описі, належить до структури  $-S(O)_2-NR^xR^y$  або  $-NR^x-S(O)_2-R^z$  при використанні на кінці; або  $-S(O)_2-NR^x$  або  $-NR^x-S(O)_2-$  при використанні всередині, де  $R^x$ ,  $R^y$  і  $R^z$  такі, як визначено вище.

Термін "сульфанільна" група, що використовується в даному описі, належить до  $-S-R^x$  при використанні на кінці і  $-S-$  при використанні всередині, де  $R^x$  був визначений вище. Приклади сульфанилів включають аліфатик- $S-$ , циклоаліфатик- $S-$ , арил- $S-$  або т. п.

Термін "сульфінільна" група, що використовується в даному описі, належить до  $-S(O)-R^x$  при використанні в кінці і  $-S(O)-$  при використанні всередині, де  $R^x$  був визначений вище. Типові сульфінільні групи включають аліфатик- $S(O)-$ , арил- $S(O)-$ , (циклоаліфатик(аліфатик))- $S(O)-$ , циклоалкіл- $S(O)-$ , гетероциклоаліфатик- $S(O)-$ , гетероарил- $S(O)-$  або т. п.

Термін "сульфонільна" група, що використовується в даному описі, належить до  $-S(O)_2-R^x$  при використанні в кінці і  $-S(O)_2-$  при використанні всередині, де  $R^x$  був визначений вище. Типові сульфонільні групи включають аліфатик- $S(O)_2-$ , арил- $S(O)_2-$ , (циклоаліфатик(аліфатик))- $S(O)_2-$ , циклоаліфатик- $S(O)_2-$ , гетероциклоаліфатик- $S(O)_2-$ , гетероарил- $S(O)_2-$ , (циклоаліфатик(амідо(аліфатик)))- $S(O)_2-$  або т. п.

Термін, що використовується в даному описі "сульфокси" група належить до  $-O-SO-R^x$  або  $-SO-O-R^x$ , при використанні на кінці і  $-O-S(O)-$  або  $-S(O)-O-$  при використанні всередині, де  $R^x$  був визначений вище.

Термін, що використовується в даному описі "галоген" або "галогенідна" група належить до фтору, хлору, бромю або йоду.

Використовуваний в даному описі "алкоксикарбоніл", який входить до групи, що характеризується терміном "карбокси", що використовується поодиноці або в зв'язку з іншою групою, належить до групи, такої як алкіл- $O-C(O)-$ .

Термін "алкоксіалкіл", що використовується в даному описі, належить до алкільної групи, такої як алкіл-О-алкіл-, де алкіл такий, як визначено вище.

Термін "карбоніл", що використовується в даному описі, належить до -C(O)-.

Термін "оксо", що використовується в даному описі, належить до =O.

5 Термін "фосфо", що використовується в даному описі, належить до фосфінатів і фосфонатів. Приклади фосфінатів і фосфонатів включають - P(OR<sup>p</sup>)<sub>2</sub>, де R<sup>p</sup> являє собою аліфатичну групу, алкокси, арилокси, гетероарилокси, (циклоаліфатик)окси, (гетероциклоаліфатик)окси, арил, гетероарил, циклоаліфатичну групу або аміно.

10 Термін "аміноалкіл", що використовується в даному описі, належить до структури (R<sup>x</sup>)<sub>2</sub>N-алкіл-.

Термін "ціаноалкіл", що використовується в даному описі, належить до структури (NC)-алкіл-.

15 Як використовується в даному описі, термін "сечовинна" група належить до структури -NR<sup>x</sup>-CO-NR<sup>y</sup>R<sup>z</sup> і термін "тіосечовинна" група належить до структури -NR<sup>x</sup>-CS-NR<sup>y</sup>R<sup>z</sup> при використанні на кінці і -NR<sup>x</sup>-CO-NR<sup>y</sup>- або -NR<sup>x</sup>-CS-NR<sup>y</sup>- при використанні всередині, де R<sup>x</sup>, R<sup>y</sup> і R<sup>z</sup> були визначені вище.

Термін "гуанідинова" група, що використовується в даному описі, належить до структури -N=C(N(R<sup>x</sup>R<sup>y</sup>))N(R<sup>x</sup>R<sup>y</sup>) або -NR<sup>x</sup>-C(=NR<sup>x</sup>)NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>, де R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> такі, як визначено вище.

20 Термін "амідино" група, що використовується в даному описі, належить до структури -C=(NR<sup>x</sup>)N(R<sup>x</sup>R<sup>y</sup>), де R<sup>x</sup> і R<sup>y</sup> такі, як визначено вище.

У загальному випадку термін "сусідній" належить до розташування замісників на групі, яка містить два або більшу кількість атомів вуглецю, в якій замісники приєднані до сусідніх вуглецевих атомів.

25 У загальному випадку термін "здвоєний" належить до розташування замісників на групі, яка містить два або більшу кількість атомів вуглецю, в якій замісники приєднані до одного і того самого атому вуглецю.

30 Терміни "на кінці" і "всередині" належать до розташування групи в межах замісника. Група є кінцевою, якщо ця група присутня на кінці замісника, не зв'язаного додатково із залишком хімічної структури. Карбоксіалкіл, тобто R<sup>x</sup>O(O)C-алкіл є прикладом карбоксигрупи, що використовується на кінці. Група є внутрішньою, якщо ця група присутня в середині замісника хімічної структури. Алкілкарбокси (наприклад, алкіл-C(O)O- або алкіл-OC(O)-) і алкілкарбоксіарил (наприклад, алкіл-C(O)O-арил- або алкіл-O(CO)-арил-) є прикладами карбоксигруп, що використовуються всередині.

35 Термін "аліфатичний ланцюг", що використовується в даному описі, належить до розгалуженої або прямої аліфатичної групи (наприклад, алкільні групи, алкенільні групи або алкінільні групи). Прямий аліфатичний ланцюг має структуру -[CH<sub>2</sub>]<sub>v</sub>-, де v дорівнює 1-12. Розгалужений аліфатичний ланцюг являє собою прямий аліфатичний ланцюг, який заміщений однією або декількома аліфатичними групами. Розгалужений аліфатичний ланцюг має структуру -[CQQ]<sub>v</sub>-, де кожний Q являє собою незалежно водень або аліфатичну групу; однак Q повинен бути аліфатичною групою в щонайменше одному випадку. Термін "аліфатичний ланцюг" включає алкільні ланцюги, алкенільні ланцюги і алкінільні ланцюги, де алкіл, алкеніл і алкініл такі, як визначено вище.

45 Вираз "необов'язково заміщений" використовують взаємозамінно з виразом "заміщений або незаміщений". Як описано в даному описі, сполуки за даним винаходом можуть бути необов'язково заміщеними одним або декількома замісниками, такими як ілюстровані в загальних рисах вище, або представлені конкретними класами, підкласами і різновидом даного винаходу. Як описано в даному описі, змінні R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> і R<sub>3</sub>, і інші змінні, що містяться в формулах, описаних в даному описі, охоплюють конкретні групи, такі як алкіл і арил. Якщо не обумовлено особливо, кожна з конкретних груп для змінних R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> і R<sub>3</sub>, і інших змінних, що містяться в них, може бути необов'язково заміщена одним або декількома замісниками, описаними в даному описі. Кожний замісник конкретної групи додатково необов'язково заміщений 1-3 замісниками, такими як галоген, ціано, оксо, алкокси, гідрокси, аміно, нітро, арил, циклоаліфатична, гетероциклоаліфатична група, гетероарил, галогеналкіл і алкіл. Наприклад, алкільна група може бути заміщена алкілсульфанілом і алкілсульфаніл може бути необов'язково заміщений 1-3 замісниками, такими як галоген, ціано, оксо, алкокси, гідрокси, аміно, нітро, арил, галогеналкіл і алкіл. Як додатковий приклад, циклоалкільна частина (циклоалкіл)карбоніламіно може бути необов'язково заміщена 1-3 замісниками, такими як галоген, ціано, алкокси, гідрокси, нітро, галогеналкіл і алкіл. У тих випадках коли дві алкоксигрупи зв'язані з одним і тим самим атомом або сусідніми атомами, дві алкоксигрупи можуть утворити цикл разом з атомом(ами), з яким(и) 60 вони пов'язані.



Загалом, термін "заміщений" незалежно від того, чи передує йому термін "необов'язково" або ні, належить до заміни водневих радикалів в даній структурі радикалом певного замісника. Конкретні замісники описані вище у визначеннях і нижче в описі сполук і їх прикладах. Якщо не обумовлено інакше, необов'язково заміщена група може мати замісник в кожному положенні групи, що заміщується, і в тих випадках, коли більше ніж одне положення в будь-якій даній структурі може бути заміщене більше ніж одним замісником, вибраним з певної групи, замісник в кожному положенні може бути або однаковим, або відмінним один від одного. Циклічний замісник, такий як гетероциклоалкіл, може бути зв'язаний з іншим циклом, таким як циклоалкіл, утворюючи спіробициклічну структуру, наприклад, обидва цикли мають один загальний атом. Як очевидно середньому фахівцеві в даній галузі, комбінації замісників, що передбачаються даним винаходом, являють собою ті комбінації, які призводять до утворення стабільних або хімічно можливих сполук.

Вираз "стабільне або хімічно можливе", що використовується в даному описі, належить до сполук, які по суті, не змінюються, коли їх піддають впливу умов, що передбачають їх одержання, виявлення і, переважно, їх виділення, очищення і їх використання для однієї або більшої кількості цілей, що розкриваються в даному описі. У деяких варіантах стабільна сполука або хімічно можлива сполука являє собою сполуку, яка, по суті, не змінюється при зберіганні її при температурі 40 °C або нижче, за відсутності вологи або інших хімічно активних умов, протягом щонайменше тижня.

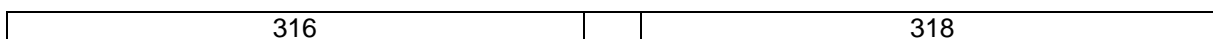
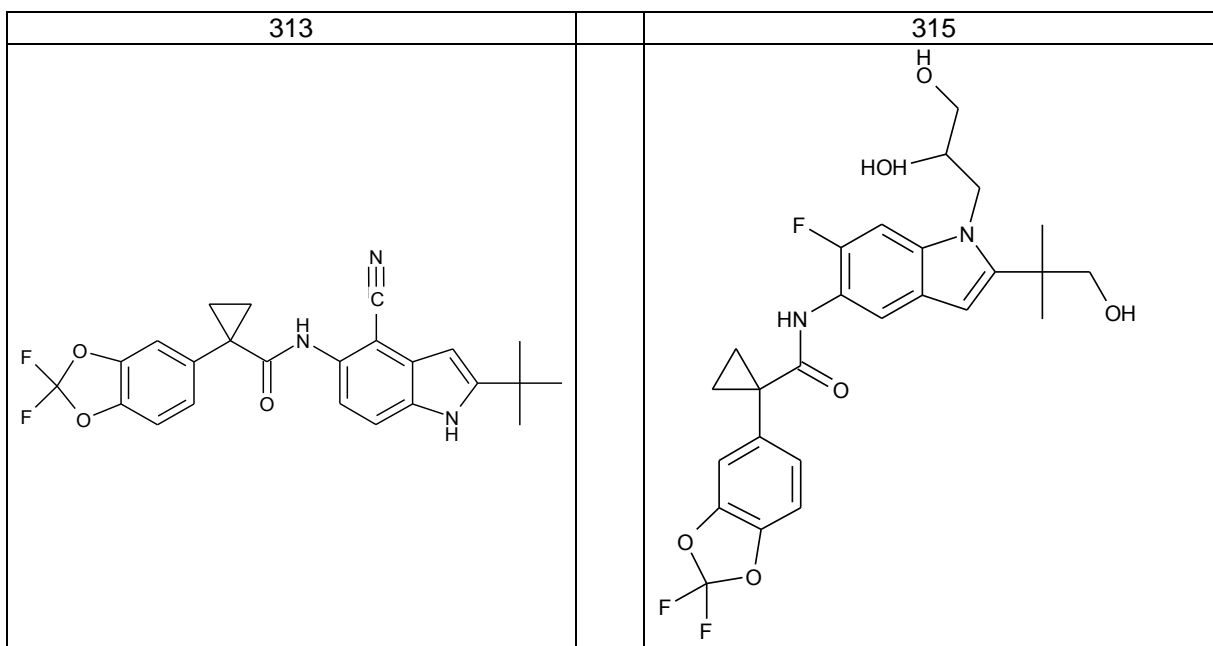
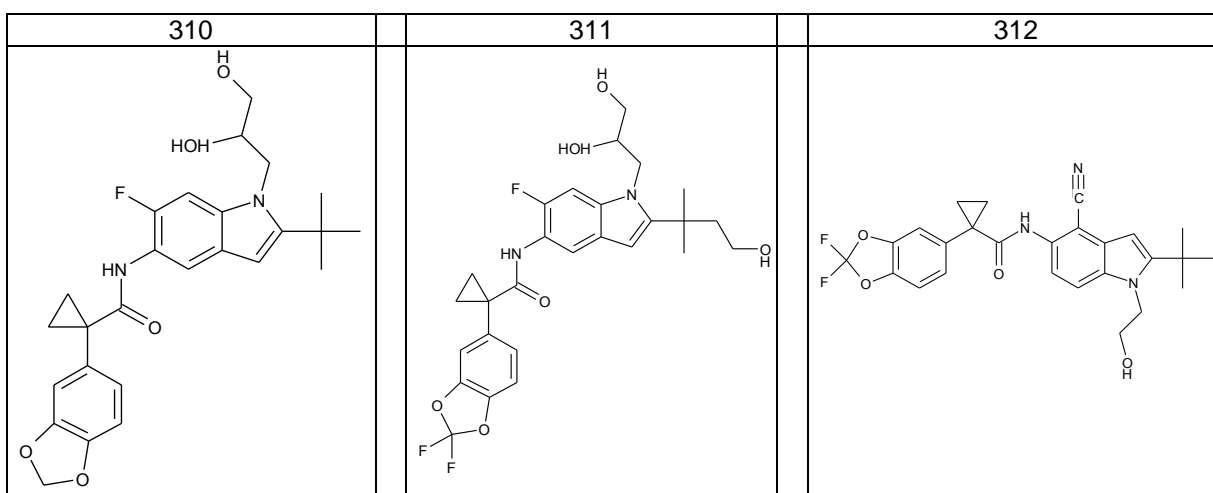
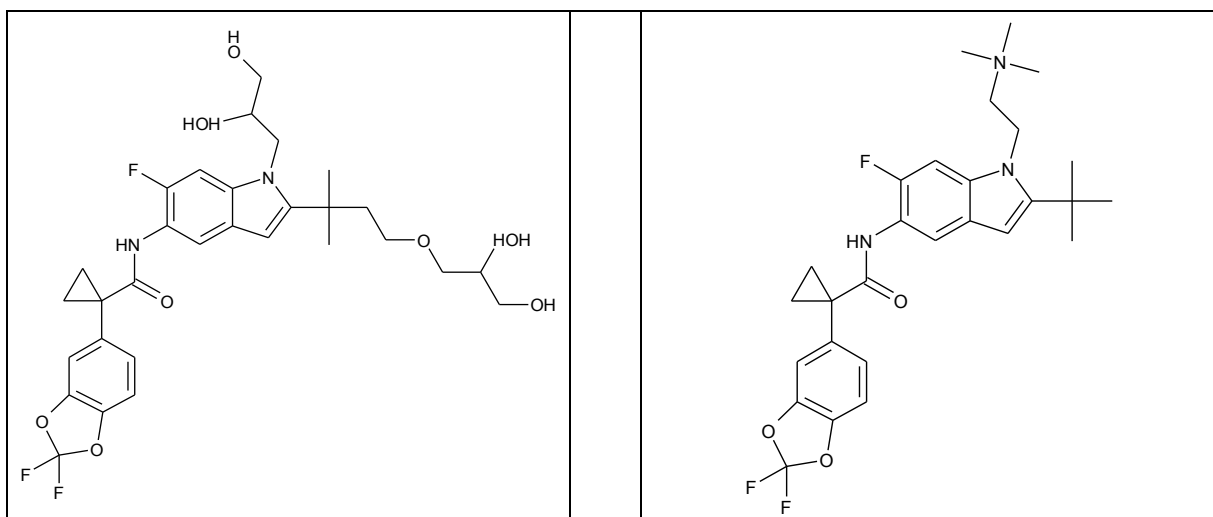
Вираз "ефективна кількість", що використовується в даному контексті, визначають як кількість, необхідну для досягнення позитивного лікувального результату у пацієнта, що підлягає лікуванню, і цю кількість зазвичай визначають, виходячи з віку, площі поверхні, маси тіла і стану пацієнта. Взаємовідношення дозування для тварин і людей (виходячи з міліграмів на квадратний метр поверхні тіла) описане Freireich et al., *Cancer Chemother. Rep.*, 50: 219 (1966). Площа поверхні тіла може бути приблизно визначена, виходячи із росту і маси тіла пацієнта. Див., наприклад, *Scientific Tables*, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, New York, 537 (1970). Термін "пацієнт", що використовується в даному описі, належить до ссавця, включаючи людину.

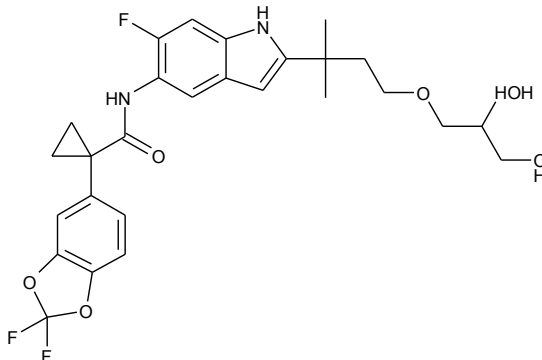
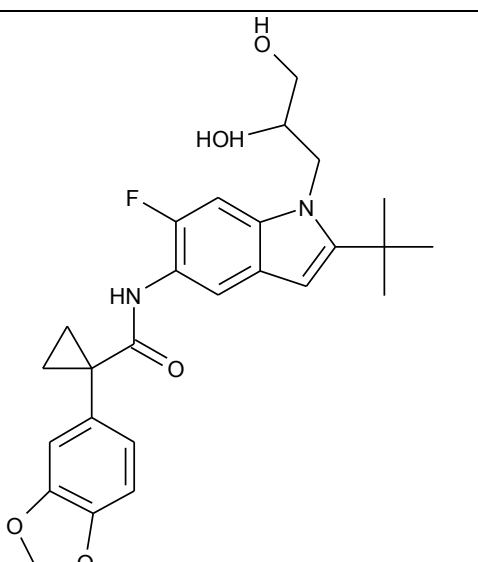
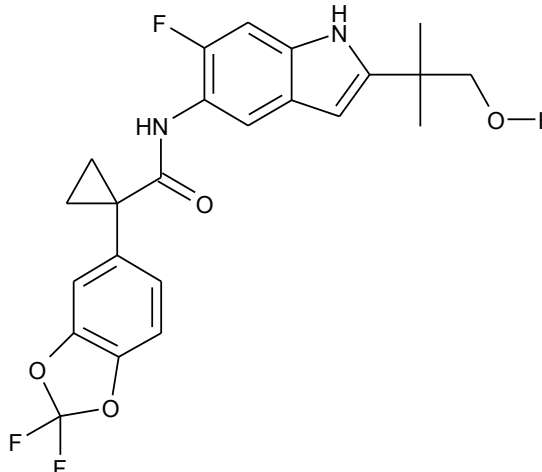
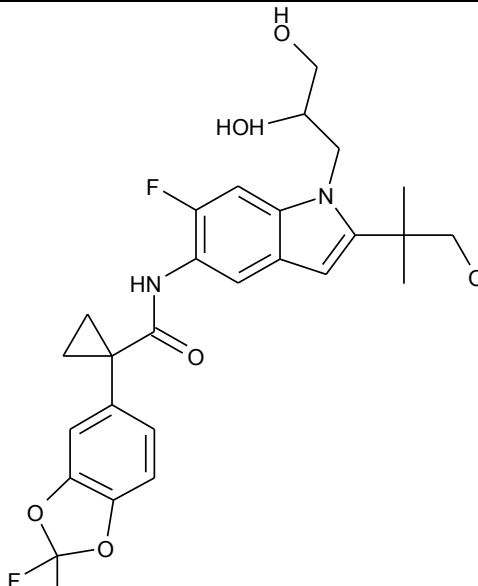
Якщо не обумовлено інакше, то структури, описані в даному описі, як передбачають, також включають всі ізомерні (наприклад, енантіомерні, діастереомерні і геомеричні (або конформаційні) форми структури; наприклад, R- і S-конфігурації для кожного асиметричного центра, (Z)- і (E)-ізомери відносно подвійного зв'язку і конформаційні (Z)- і (E)-ізомери. Отже, окремі стереохімічні ізомери, а також енантіомерні, діастереомерні і геометричні (або конформаційні) суміші сполук за даним винаходом знаходяться в межах обсягу даного винаходу. Якщо не обумовлено інакше, то всі таутомерні форми сполук за даним винаходом знаходяться в межах обсягу даного винаходу. Крім того, якщо не обумовлено інакше, то структури, описані в даному описі, як передбачають, також включають сполуки, які відрізняються тільки присутністю одного або декількох ізотопно збагачених атомів. Наприклад, сполуки, що мають дані структури, за винятком заміни водню на дейтерій або тритій, або заміни вуглецю на  $^{13}\text{C}$  або  $^{14}\text{C}$ -збагачений вуглець, також не вийдуть за межі обсягу даного винаходу. Такі сполуки використовують, наприклад, як аналітичні інструменти або зонди в кількісних визначеннях біологічної активності (наприклад, лікарського препарату), або як лікувальні засоби.

Сполуки за даним винаходом використовують як модулятори ABC-транспортерів і використовують для лікування захворювань, опосередкованих ABC-транспортерами.

## II. Сполуки

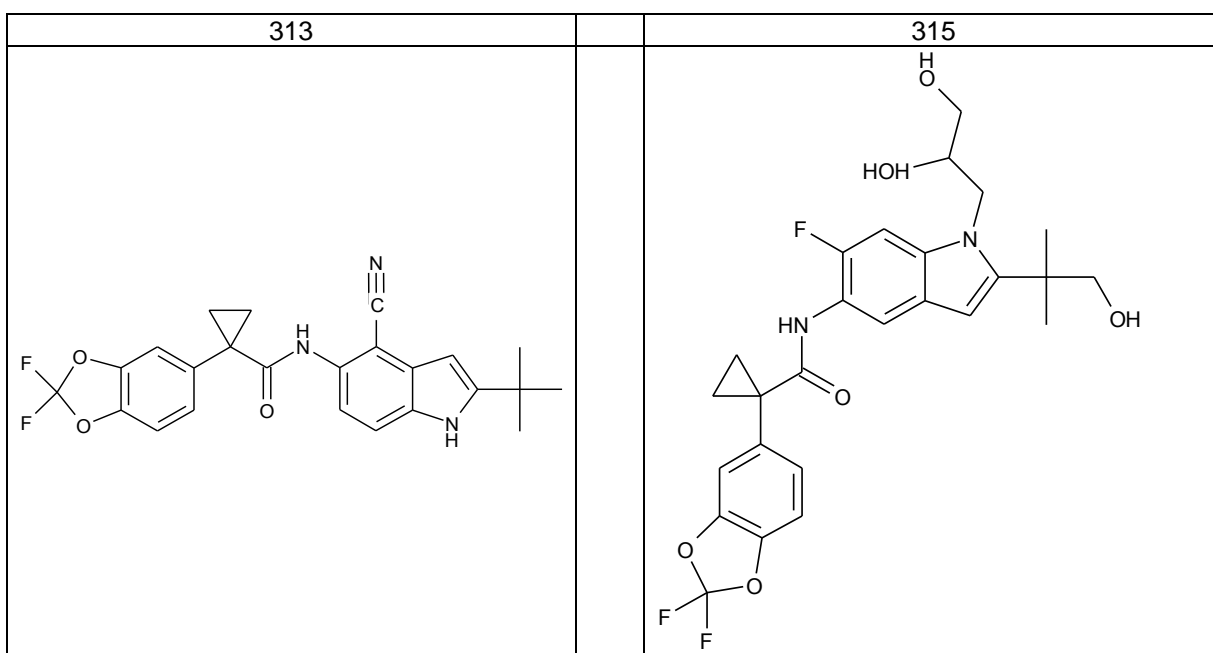
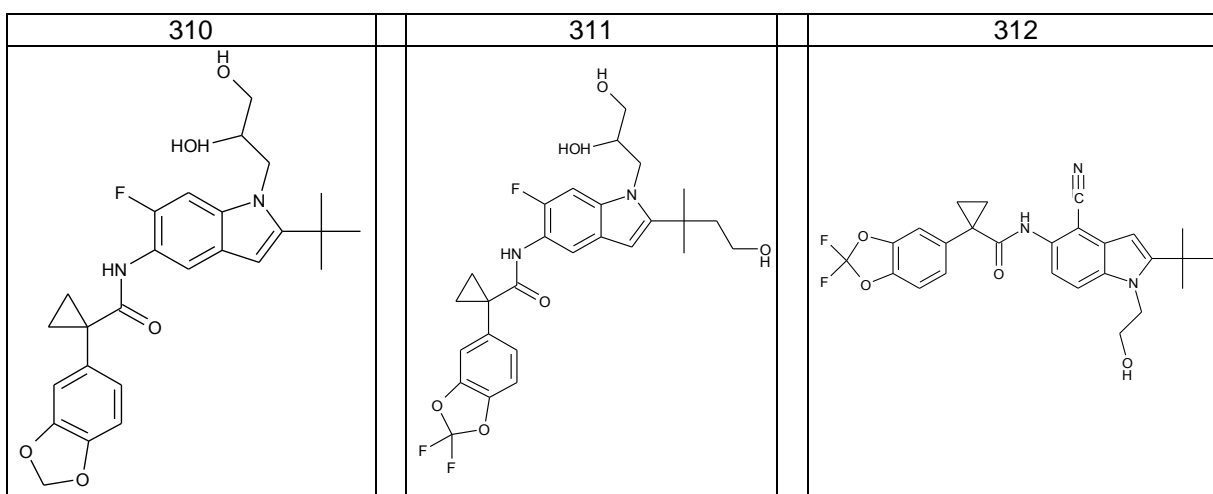
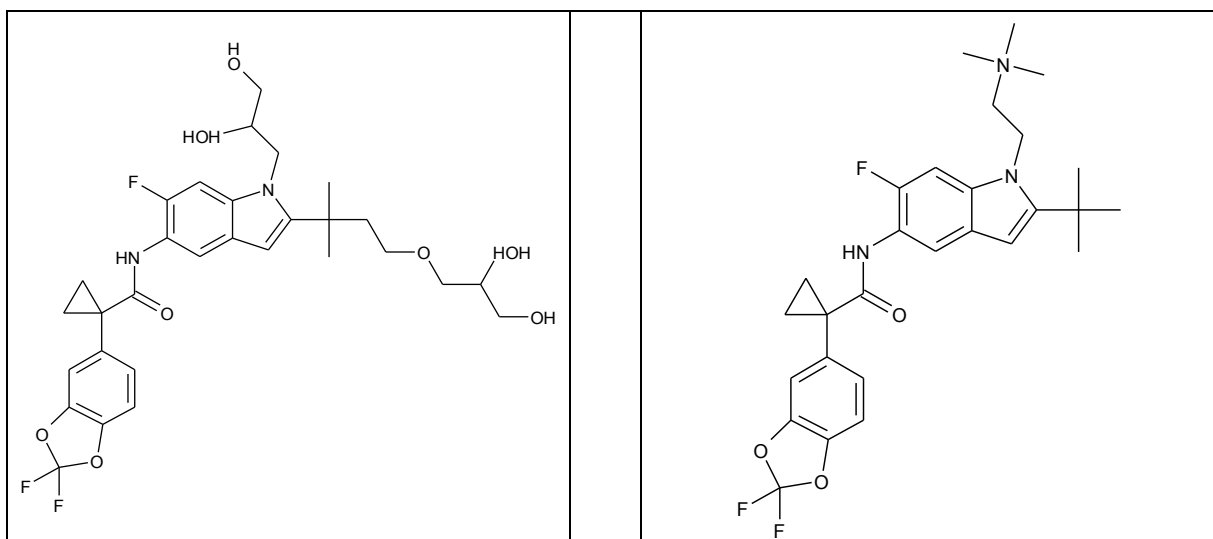
Сполуки за даним винаходом являють собою

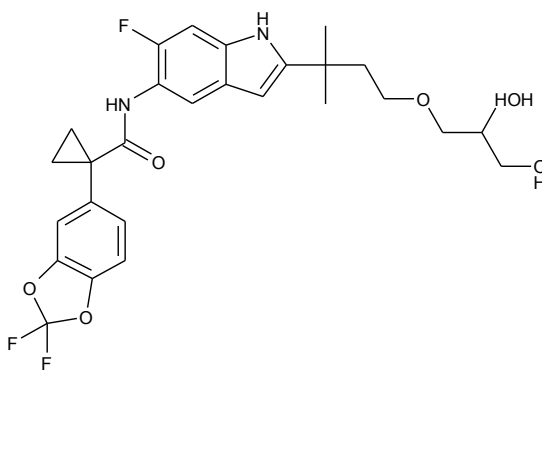
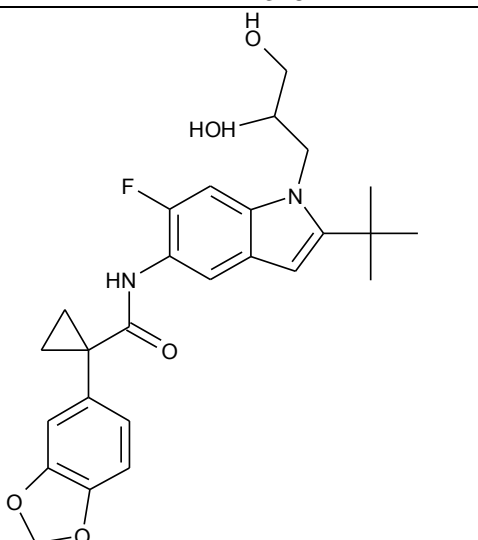
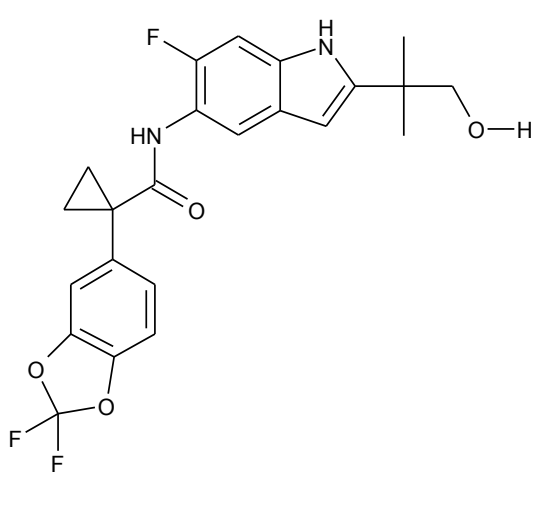
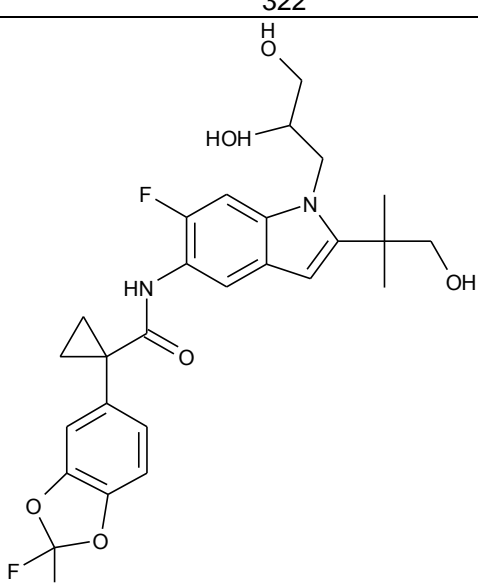


	
<p style="text-align: center;">320</p> 	<p style="text-align: center;">322</p> 

В іншому аспекті даний винахід належить до фармацевтичної композиції, що містить (i) сполуку за даним винаходом; i (ii) фармацевтично прийнятний носій. В іншому варіанті композиція додатково містить додатковий засіб, вибраний з муколітичного засобу, бронходилататора, антибіотика, дезінфікуючого засобу, протизапального засобу, коректора CFTR або живильного засобу. В іншому варіанті композиція додатково містить додатковий засіб, вибраний із сполук, розкритих в заявці на патент США № 11/165818, опублікованій у вигляді заявки на патент США № 2006/0074075, поданої 24 червня 2005 року і включеної в даний опис в повному обсязі у вигляді посилання. В іншому варіанті композиція додатково включає N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1H-хінолін-3-карбоксамід. Ці композиції використовують для лікування захворювань, описаних нижче, включаючи муковісцидоз. Ці композиції, крім того, використовують в наборах, описаних нижче.

В іншому аспекті даний винахід належить до способу збільшення кількості функціональних ABC-транспортерів в мембрані клітини, що включає стадію контактування вказаної клітини зі сполукою, вибраною з



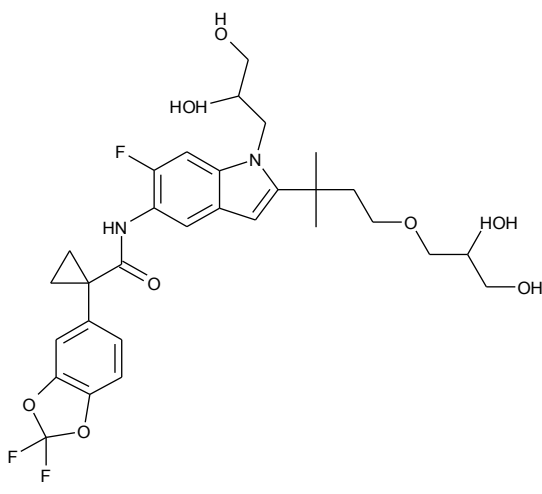
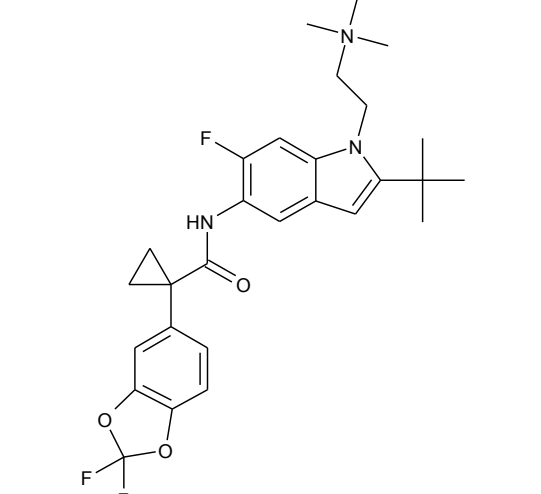
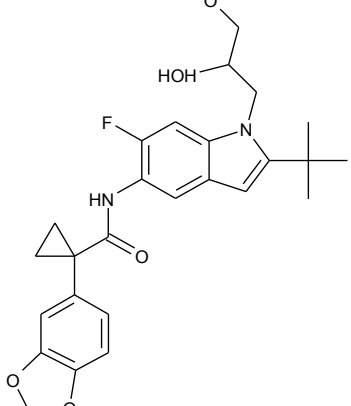
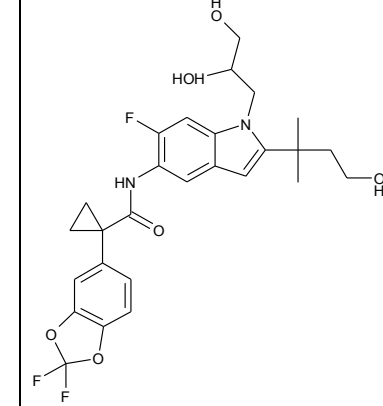
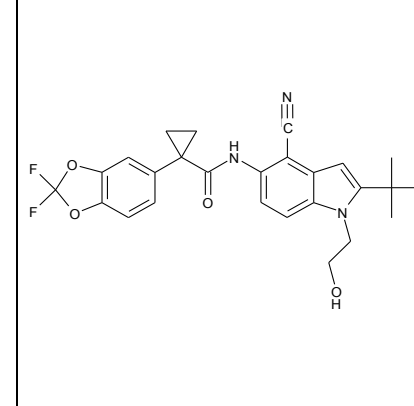
<p style="text-align: center;">316</p> 	<p style="text-align: center;">318</p> 
<p style="text-align: center;">320</p> 	<p style="text-align: center;">322</p> 

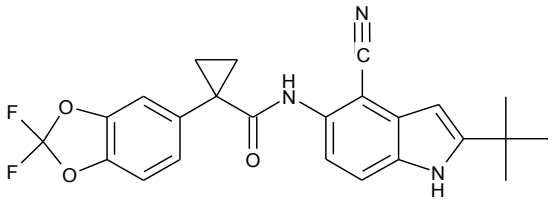
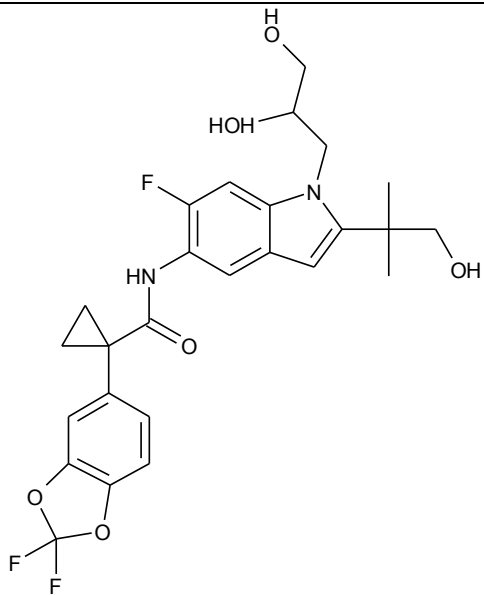
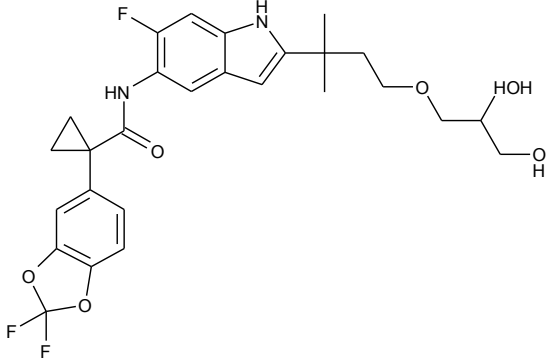
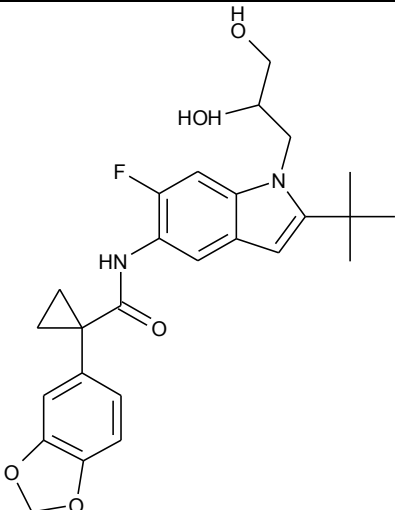
- В одному варіанті такого способу вказаний стан, захворювання або порушення вибране з
- 5 муковісцидозу, спадкової емфіземи, спадкового гемохроматозу, недостатності факторів згортання крові і фібринетабілізуючого фактора, такого як дефіцит білка С, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, дефектів в процесингу ліпідів, таких як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абеталіпопротеїнемія, лізосомних хвороб, таких як хвороба клітинних включень/псевдо-Хюрлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Кріглера-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет,
  - 10 карликовість Ларона, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреїдизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (di), нейрофізіологічний di, нефрогенний DI, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративних захворювань, такі як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деяких неврологічних розладів, пов'язаних з обміном глутаміну, таких як хвороба Гентінгтона, спинномозкова атаксія I типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідоліюсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчастих
  - 15 енцефалопатій, таких як спадкова хвороба Крейтцфельдта-Якоба, хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих
  - 20

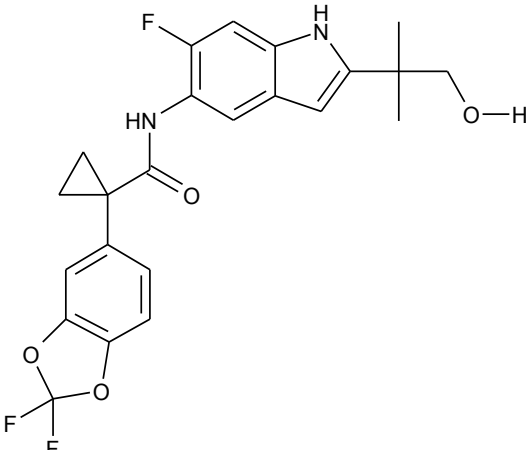
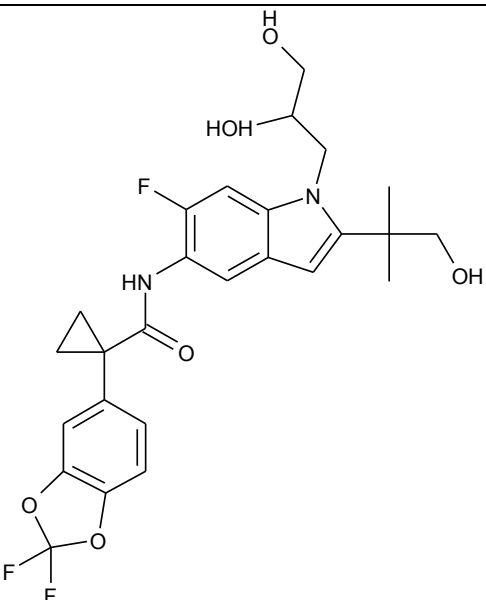
очей і синдром Шегрена.

В іншому аспекті даний винахід належить до набору для використання його для вимірювання активності АВС-транспортера або його фрагмента в біологічному зразку *in vitro* або *in vivo*, що містить:

- 5 (i) першу композицію, яка містить сполуку, вибрану з

		
310	311	312
		

313		315
		
316		318
		

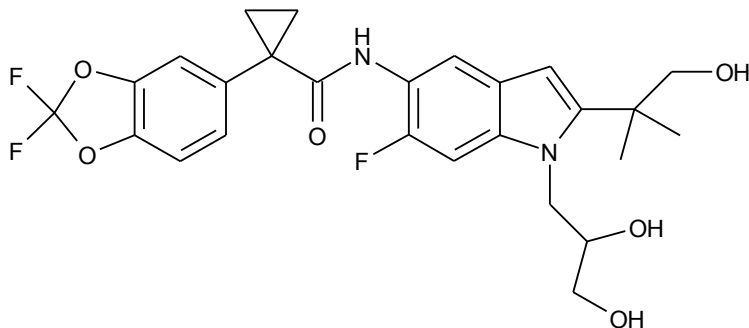
320		322
	i	

(b) вимірювання активності вказаного ARC-транспортера або його фрагмента.

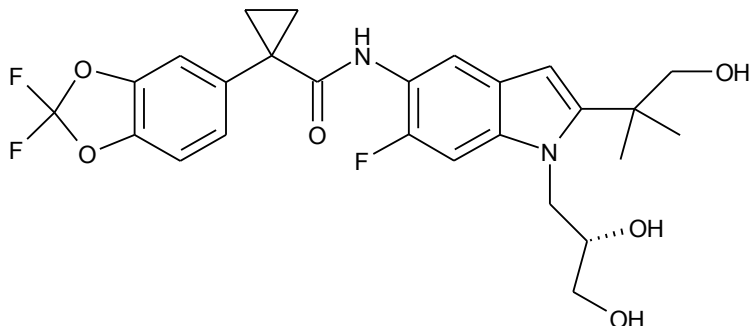
- В одному варіанті набір додатково містить інструкції для (a) контактування додаткової композиції з біологічним зразком; (b) вимірювання активності вказаного ABC-транспортера або його фрагмента в присутності вказаної додаткової сполуки і (c) порівняння активності ABC-транспортера в присутності додаткової сполуки з густиною ABC-транспортера в присутності вищезгаданої першої композиції.

В одному варіанті набір використовують для вимірювання густини CFTR.

- У деяких варіантах з всіх представлених вище аспектів сполука являє собою

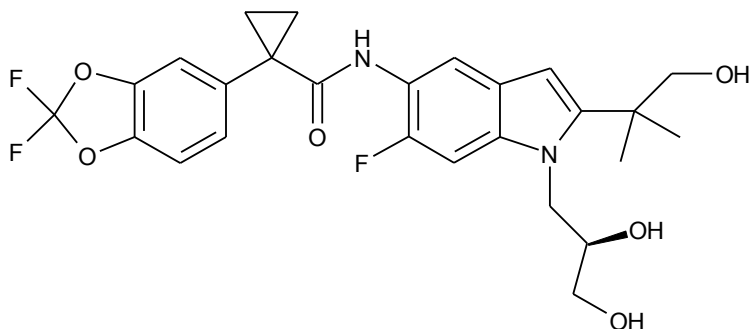


В інших варіантах з всіх представлених вище аспектів сполука являє собою



У наступних варіантах з всіх представлених вище аспектів сполука являє собою





#### IV. Загальні схеми синтезу

Сполуки за даним винаходом можуть бути легко синтезовані з комерційно доступних або відомих вихідних продуктів відомими способами. у даному описі пропонуються типові шляхи синтезу для одержання сполук за даним винаходом.

#### V. Готові лікарські форми, введення і використання

Відповідно, в іншому аспекті даного винаходу пропонуються фармацевтично прийнятні композиції, і ці композиції містять будь-яку зі сполук, описаних в даному описі, і необов'язково містять фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант або наповнювач. У деяких варіантах ці композиції необов'язково додатково містять один або декілька додаткових лікувальних засобів.

Крім того, потрібно розуміти, що деякі зі сполук за даним винаходом можуть знаходитися у вільній формі для лікування або, де це доречно, у вигляді її фармацевтично прийнятного похідного або проліків. Згідно з даним винаходом фармацевтично прийнятне похідне або проліки включає, але не обмежуючись ними, фармацевтично прийнятні солі, складний ефір, солі такого складного ефіру, або будь-який інший аддукт або похідне, яке після введення пацієнту, що потребує такого введення, здатне забезпечити, безпосередньо або непрямо, сполуку, описану, загалом, в даному контексті, або її метаболіт або залишок.

Термін "фармацевтично прийнятна сіль", що використовується в даному описі, належить до солей, які, в межах обґрунтованої медичної оцінки, є придатними для використання в контакті з тканинами людей і нижчими тваринами без виявлення будь-якої неспецифічної токсичності, подразнення, алергічної реакції і т. п., і відповідають розумному співвідношенню користь/ризик. "Фармацевтично прийнятна сіль" означає будь-яку нетоксичну сіль або сіль складного ефіру сполуки за даним винаходом, яка, після введення реципієнту, здатна забезпечити, або безпосередньо, або непрямо, сполуку за даним винаходом або її активний метаболіт або залишок.

Фармацевтично прийнятні солі добре відомі в даній галузі. Наприклад, S.M. Berge та ін. детально описує фармацевтично прийнятні солі в J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, зміст якої включений в даний опис у вигляді посилання. Фармацевтично прийнятні солі сполук за даним винаходом включають солі, одержані виходячи з відповідних неорганічних і органічних кислот і основ. Приклади фармацевтично прийнятних нетоксичних адитивних солей кислоти являють собою солі аміногрупи, утворені з неорганічними кислотами, такими як хлористоводнева кислота, бромистоводнева кислота, фосфорна кислота, сірчана кислота і перхлорна кислота, або з органічними кислотами, такими як оцтова кислота, щавлева кислота, малеїнова кислота, винна кислота, лимонна кислота, бурштинова кислота або маленова кислота, або шляхом використання інших способів, що використовуються в даній галузі, таких як іонний обмін. Інші фармацевтично прийнятні солі включають такі солі, як адипат, альгінат, аскорбат, аспартат, бензосульфат, бензоат, бісульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропіонат, диглюконат, додецилсульфат, етансульфонат, форміат, фумарат, глюкогептонат, гліцерофосфат, глюконат, гемісульфат, гептаноат, гексаноат, гідройодид, 2-гідроксіетансульфонат, лактобінат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малсат, малонат, метансульфонат, 2-нафталінсульфонат, нікотинат, нітрат, олеат, оксалат, пальмітат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенілпропіонат, фосфат, пікрат, пивалат, пропіонат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тіоціонат, п-толуолсульфонат, ундеканат, валерат, і т. п. Солі, одержані з відповідних основ, включають солі лужних металів, лужно-земельних металів, амонію і солі  $N^+(C_{1-4}\text{алкіл})_4$ . Цей винахід також передбачає кватернізацію будь-яких груп сполук, що містять основний азот, розкритих в даному описі. Такою кватернізацією можна одержати розчинні або дисперговані у воді або маслі продукти. Репрезентативні солі лужних або лужноземельних металів включають солі натрію, літію, калію, кальцію, магнію і т. п. Додаткові фармацевтично прийнятні солі включають, коли це необхідно, нетоксичні катіони амонію, четвертинною амонію і аміну, утворені, використовуючи протиіони,

такі як галогенід, гідроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нітрат, нижчий алкілсульфонат і арилсульфонат.

Як описано вище, фармацевтично прийнятні композиції за даним винаходом додатково містять фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант або наповнювач, який, як використовується в даному контексті, включає будь-який і всі розчинники, розріджувачі, або інший рідкий наповнювач, диспергувальні або суспендувальні добавки, поверхнево-активні речовини, ізотонічні засоби, загусники або емульгуючі засоби, консерванти, тверді зв'язувальні, мастила і т. п., які є придатними для необхідної конкретної лікарської форми. У Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E.W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) розкриваються різні носії, що використовуються для приготування фармацевтично прийнятних композицій і відомі технології для їх одержання. За винятком тих випадків, коли будь-яке звичайне середовище-носій несумісне зі сполуками за даним винаходом, а саме, провокуючи тим самим вияв будь-якої небажаної біологічної дії, або її іншої можливої взаємодії згубним чином з будь-яким іншим(ми) компонентом(ами) фармацевтично прийнятної композиції, використання звичайного середовища-носія, як передбачають, знаходиться в межах обсягу даного винаходу. Деякі приклади речовин, які можуть використовуватися як фармацевтично прийнятні носії, включають, але ними не обмежуються, іоніти, оксид алюмінію, стеарат алюмінію, лецитин, сироваткові білки, такі як людський сироватковий альбумін, буферні речовини, такі як фосфати, гліцин, сорбінову кислоту або сорбат калію, суміші часткових гліцеридів насичених рослинних жирних кислот, воду, солі або електроліти, такі як сульфат протаміну, динатрійгідрофосфат, гідрофосфат калію, хлорид натрію, солі цинку, колоїдний кремнезем, трисилікат магнію, полівінілпіролідон, поліакрилати, віск, блок-співполімери етилен-оксипропілен, ланолін, цукор, такий як лактоза, глюкоза і сахароза; крохмаль, такий як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль; целюлозу і її похідні, такі як натрійкарбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза і ацетат целюлози; порошкоподібний трагакант; солод; желатин; тальк; наповнювачі, такі як олія какао і віск для супозиторію; олії, такі як арахісова олія, бавовняна олія; сафлорова олія; кунжутна олія; оливкова олія; кукурудзяна олія і соєва олія; гліколі, такі як пропіленгліколь або поліетиленгліколь; складний ефір, такий як етил олеат і етиллаурат; агар; буферні речовини, такі як гідроксид магнію і гідроксид алюмінію; альгінову кислоту; апіроієнну воду; ізотонічний сольовий розчин, розчин Рінгера; етиловий спирт і фосфатні буферні розчини, а також інші нетоксичні сумісні мастила, такі як лаурилсульфат натрію і стеарат магнію, а також барвники, засоби, що сприяють вивільненню; речовини для покриття, підсолоджуючі, смакові і ароматизуючі речовини, консерванти і антиоксиданти, можуть також бути присутніми в композиції, згідно з думкою укладача рецептури.

У черговому аспекті даний винахід пропонує спосіб лікування стану, захворювання або розладу, в патологію якого залучена активність ABC-транспортера. У деяких варіантах даний винахід пропонує спосіб лікування стану, захворювання або розладів, в патології якого задіяна недостатність активності ABC-транспортера, і цей спосіб включає введення композиції, яка містить сполуку, вибрану з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322, суб'єкту, переважно ссавцеві, що потребує такого лікування.

У деяких переважних варіантах даний винахід пропонує спосіб лікування муковісцидозу, спадкової емфіземи, спадкового гемохроматозу, недостатності факторів згортання крові і фібринстабілізуючого фактора, такої як дефіцит білка C, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, дефектів в процесингу ліпідів, таких як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абеталіпопротеїнемія, лізосомних хвороб, таких як хвороба клітинних включень/псевдо-Хюрлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Кріглера-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет, карликовість Ларона, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреозидизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (DI), нейрофізіологічний DI, нефрогенний DI, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деяких неврологічних розладів, пов'язаних з обміном глутаміну, таких як хвороба Гентінітона, спинномозкова атаксія I типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідольоїсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчастих енцефалопатій, таких як спадкова хвороба Крейтцфельдта-Якоба (зумовлена дефектом в процесингу пріонного білка), хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, секреторна діарея, полікістоз нирок, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих очей і синдром Шегрена, що

включає стадію введення вказаному ссавцю ефективної кількості композиції, що містить сполуку, вибрану з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 а 322, або її переважний варіант, представлений вище.

5 Згідно з альтернативним переважним варіантом даний винахід пропонує спосіб лікування муковісцидозу, що включає стадію введення вказаному ссавцеві ефективної кількості композиції, яка містить сполуку, вибрану з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322, або її переважний варіант, представлений вище.

Згідно з винаходом "ефективна кількість" сполуки або фармацевтично прийнятої композиції являє собою ту кількість, яка ефективна для лікування або зниження ступеню тяжкості одного або декількох захворювань, такого як муковісцидоз, спадкова емфізема, спадковий гемохроматоз, недостатність факторів згортання крові і фібринстабілізуючого фактора, такі як дефіцит білка С, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, дефекти в процесингу ліпідів, такі як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абсталипопротеїнемія, лізосомні хвороби, як, наприклад, хвороба клітинних включень/псевдо-Хюрлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Крігlera-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет, карликовість Ларона, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреоїдизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (DI), нейрофізіологічний DI, нефрогенний DI, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деякі неврологічні розлади, пов'язані з обміном глутаміну, такі як хвороба Гентінгтона, спинномозкова атаксія I типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідолюїсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчасті енцефалопатії, такі як спадкова хвороба Крейтцфельдта-Якоба, хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, секреторна діарея, полікістоз нирок, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих очей і синдром Шегрена.

Сполуки і композиції, згідно з способом за даним винаходом, можна вводити, використовуючи будь-яку кількість і будь-який шлях введення, ефективні для лікування або зниження ступеню тяжкості одного або декількох захворювань, такого як муковісцидоз, спадкова емфізема, спадковий гемохроматоз, недостатність факторів згортання крові і фібринстабілізуючого фактора, таких як дефіцит білка С, спадковий ангіоневрологічний набряк 1 типу, дефекти в процесингу ліпідів, такі як сімейна гіперхолестеринемія, хіломікронемія 1 типу, абсталипопротеїнемія, лізосомні хвороби, такі як хвороба клітинних включень/псевдо-Хюрлера, мукополісахаридози, хвороба Сандхоффа/Тей-Сакс, хвороба Крігlera-Найяра II типу, поліендокринопатія/гіперінсулінемія, цукровий діабет, карликовість Ларона, дефіцит мілеопероксидази, первинний гіпаратиреоїдизм, меланома, глікогеноз CDG 1 типу, спадкова емфізема, природжений гіпертиреоїдизм, незавершений остеогенез, спадкова гіпофібриногенемія, недостатність АСТ, нецукровий діабет (di), нейрофізіологічний DI, нефрогенний DI, синдром Шарко-Марі-Тута, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз, прогресуючий супрануклеарний параліч, хвороба Піка, деякі неврологічні розлади, пов'язані з обміном поліглютаміну, такі як хвороба Гентінгтона, спинномозкова атаксія I типу, спінально-бульбарна м'язова атрофія, дентаторубральна і палідолюїсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчасті енцефалопатії, такі як спадкова хвороба Крейтцфельдта-Якоба, хвороба Фабрі, синдром Штраусслера-Шейнкера, секреторна діарея, полікістоз нирок, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD), хвороба сухих очей і синдром Шегрена.

Необхідна точна кількість може варіюватися від суб'єкта до суб'єкта, залежно від біологічного виду, віку і загального стану суб'єкта, ступеню тяжкості інфікування, конкретного засобу, способу його введення, і т. п. Сполуки за даним винаходом переважно використовують для одержання уніфікованої лікарської форми для полегшення введення і досягнення одноманітності дозування. Вираз "стандартна лікарська форма", що використовується в даному описі, належить до фізично дискретної одиниці засобу, придатної для пацієнта, що підлягає лікуванню. Очевидно, однак, що рішення відносно сумарного добового вживання сполук і композицій за даним винаходом зазвичай приймається лікуючим лікарем в межах обґрунтованої медичної оцінки. Конкретний рівень ефективної дози для будь-якого конкретного пацієнта або організму зазвичай залежить від цілого ряду факторів, включаючи порушення, що підлягає лікуванню, і ступінь тяжкості цього порушення; активність конкретної сполуки, що

використовується; конкретну композицію, що використовується; вік, масу тіла, загальний стан здоров'я, стать і режим харчування пацієнта; час введення, спосіб введення, і швидкість екскреції конкретної сполуки, що використовується; тривалість лікування; лікарські засоби, що використовуються в комбінації або такі, що співпадають з прийомом конкретної сполуки, що використовується, і подібні фактори, відомі в медичних галузях. Під терміном "пацієнт", що використовується в даному описі, розуміється тварина, переважно ссавець, і найбільш переважно людина.

Фармацевтично прийнятні композиції за даним винаходом можна вводити людям і іншій тварині перорально, ректально, парентерально, інтрацистернально, інтравагінально, інтраперитонеально, місцево (у вигляді порошків, мазей або крапель), трансбукально, у вигляді перорального або назального спрею, або т. п., залежно від ступеню тяжкості інфекції, що підлягає лікуванню. У деяких варіантах для одержання бажаної лікувальної дії сполуки за даним винаходом можуть вводитися перорально або парентерально при рівнях дози від близько 0,01 до близько 50 мг/кг, і переважно від близько 1 до близько 25 мг/кг, маса тіла суб'єкта на день, один або декілька разів на день.

Рідкі лікарські форми для перорального введення включають, але ними не обмежуються, фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи і еліксири. Крім активних сполук, рідкі лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, що зазвичай використовуються в даній галузі, такі як, наприклад, вода або інші розчинники, солюбілізувальні засоби і емульгуючі засоби, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етил карбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, диметилформамід, олії (зокрема, бавовняна, арахісова, кукурудзяна, зародки пшениці, оливкова, рицинова і кунжутна олія), гліцерин, тетрагідрофурфуриловий спирт, поліетиленгліколи і складні ефіри жирних кислот і сорбітану, і їх суміші. Крім інертних розріджувачів, композиції для перорального введення можуть також містити допоміжні формотворні речовини, такі як зволожуючі засоби, емульгувальні і суспендувальні засоби, підсолоджуючі, смакові і ароматизуючі добавки.

Препарати для ін'єкції, наприклад стерильні ін'єктовані водні або масляні суспензії, можуть бути приготовані згідно з відомими в даній галузі способами з використанням відповідних диспергувальних або зволожуючих засобів і суспендувальних засобів. Стерильний ін'єктований препарат може бути також у вигляді стерильного ін'єктованого розчину, суспензії або емульсії в нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчинника, наприклад, у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних наповнювачів і розчинників, які можуть бути використані, вода, розчин Рінгера, Фармакопея США і ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, як розчинник або суспендувальне середовище зазвичай використовують стерильні нелеткі масла. Для цієї мети може бути використане будь-яке м'яке нелетке масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, для препарату, призначеного для ін'єкції, використовують жирні кислоти, такі як олеїнова кислота.

Готові лікарські форми для ін'єкції можуть бути стерилізовані, наприклад фільтрацією через утримуючий бактерії фільтр або шляхом включення стерилізуючих засобів в формі стерильних твердих композицій, які можуть бути розчинені або дисперговані в стерильній воді або іншому придатному для ін'єкції стерильному середовищі до використання.

Для досягнення пролонгуючої дії сполуки за даним винаходом часто потрібно уповільнити всмоктування сполуки з підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції. Цього можна досягнути, використовуючи рідку суспензію кристалічної або аморфної речовини зі слабкою розчинністю у воді. У цьому випадку швидкість всмоктування сполуки залежить від її швидкості розчинення, яка, в свою чергу, може залежати від розміру кристала і кристалічної форми. Альтернативно, уповільнена абсорбція сполуки, що вводиться парентерально, досягається шляхом розчинення або суспендування сполуки в масляному наповнювачі. Ін'єктовані форми уповільненого всмоктування одержують шляхом формування мікроінкапсульованих матриць сполуки в біодеградованих полімерах, таких як полілактид-полігліколід. Швидкість вивільнення сполуки може контролюватися залежно від відношення сполуки до полімеру і природи конкретного полімеру, що використовується. Приклади інших біодеградованих полімерів включають полі(орто-складний ефір) і полі(ангідриди). Крім того, готові лікарські форми пролонгованої дії для ін'єкції одержують інкапсулюванням сполуки в ліпосомах або мікроемульсіях, які сумісні з тканинами живого організму.

Композиції для ректального або вагінального введення являють собою переважно супозиторії, які можна одержати змішуванням сполук за даним винаходом з придатними наповнювачами або носіями, що не викликають подразнення, такими як олія какао, поліетиленгліколь або віск для супозиторію, які є твердими при температурі навколишнього

середовища, але рідкими при температурі тіла і тому плавляться в ректальній або вагінальній порожнині і вивільняють активну сполуку.

Тверді лікарські форми для перорального введення включають капсули, таблетки, пілюлі, порошки і гранули. У таких твердих лікарських формах, активну сполуку змішують з щонайменше одним інертним, фармацевтично прийнятним наповнювачем або носієм, таким як цитрат натрію або двокальцієва фосфатна сіль і/або а) наповнювачами або модифікуючими добавками, такими як крохмаль, лактоза, сахароза, глюкоза, маніт і кремнієва кислота, б) зв'язуючими, такими як, наприклад, карбокси метил целюлоза, альгінати, желатин, полівінілпіролідон, сахароза і акація, с) зволожуючими речовинами, такими як гліцерин, д) дезінтергуючими засобами, такими як агар-агар, карбонат кальцію, картопляний або тапіоковий крохмаль, альгінова кислота, деякі силікати і карбонат натрію, е) уповільнюючими розчинення засобами, такими як парафін, ф) прискорювачами всмоктування, такими як сполуки четвертинного амонію, г) зволожуючими засобами, такими як, наприклад, цетиловий спирт і гліцеринмоностеарат, h) вбирачами, такими як каолін і бентонітова глина, і i) мастилами, такими як тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколі, лаурилсульфат натрію, і їх сумішами. У випадку капсул, таблеток і пілюль, лікарська форма може також містити буферні речовини.

Тверді композиції подібного типу можуть бути також використані як наповнювачі в м'яких і твердих желатинових капсулах з лікарським засобом, що використовують такі наповнювачі, як лактоза і молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколі і т. п. Тверді лікарські форми у вигляді таблеток, драже, капсул, пілюль і гранул можна одержати з покриттями і оболонками, такими як ентросолубільні покриття і інші покриття, загальновідомими в галузі технології приготування лікарських засобів. Вони можуть необов'язково містити опалесцюючі засоби і можуть також являти собою композицію, яка вивільняє активний компонент(и) тільки, або переважно, в певній частині кишкового тракту, необов'язково, уповільненим способом. Приклади вбудовуючих композицій, які можуть бути використані, включають полімерні речовини і смоли. Тверді композиції подібного типу також можуть бути використані як наповнювачі в м'яких і твердих желатинових капсулах з лікарським засобом, що використовують такі наповнювачі, як лактоза і молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколі і т. п.

Активні сполуки можуть також знаходитися в мікроінкапсульованій формі з одним або декількома наповнювачами, відміченими вище. Тверді лікарські форми у вигляді таблеток, драже, капсул, пілюль і гранул можна одержати з покриттями і оболонками, такими як ентросолубільні покриття, покриття з контрольованим вивільненням активної сполуки і інші покриття, відомі в галузі технології приготування лікарських засобів. У таких твердих лікарських формах активна сполука може бути змішана з щонайменше одним інертним розріджувачем, таким як сахароза, лактоза або крохмаль. Такі лікарські форми можуть також містити, як це має місце в звичайній практиці, додаткові речовини, крім інертних розріджувачів, наприклад, мастила для таблетування і інші допоміжні добавки для таблетування, такі як стеарат магнію і мікрокристалічна целюлоза. У випадку капсул, таблеток і пілюль, лікарські форми можуть також містити буферні речовини. Вони можуть необов'язково містити опалесцюючі засоби і, крім того, можуть являти собою композицію, яка вивільняє активний компонент(и) тільки, або переважно, в певній частині кишкового тракту, необов'язково, уповільненим способом. Приклади вбудовуючих композицій, які можуть бути використані, включають полімерні речовини і віск.

Лікарські форми для місцевого або трансдермального введення сполуки за даним винаходом включають мазі, пасту, креми, лосьйони, гелі, порошки, розчини, аерозолі, інгаляційні засоби або пластири. Активний компонент змішують в стерильних умовах з фармацевтично прийнятним носієм і будь-якими необхідними консервантами або буферами, які можуть бути потрібними. Передбачається, що очний препарат, вушні краплі і очні краплі також знаходяться в межах обсягу даного винаходу. Крім того, даний винахід передбачає використання трансдермальних пластирів, які мають додаткову перевагу, що полягає в забезпеченні контрольованої доставки сполуки в організм. Такі лікарські форми одержують шляхом розчинення або диспергування сполуки в належному середовищі. Підсилювачі всмоктування можуть бути також використані для збільшення потоку сполуки через шкіру. Швидкість може контролюватися або шляхом забезпечення мембрани, що регулює швидкість всмоктування, або шляхом диспергування сполуки в полімерній матриці або гелі.

Як описано в загальних рисах вище, сполуки за даним винаходом використовують як модулятори ABC-транспортів. Таким чином, не заглиблюючись в розгляд будь-яких теоретичних обґрунтувань, сполуки і композиції, зокрема, використовують для лікування або зниження ступеню тяжкості захворювання, стану або порушення, де гіперактивність або пасивність ABC-транспортів виявляється залученою до патології захворювання, стану або

порушення. У тих випадках, коли гіперактивність або пасивність ABC-транспортера залучена до патології конкретного захворювання, стану або порушення, це конкретне захворювання, стан або порушення може іменуватися як "опосередковане ABC-транспортером захворювання, стан або порушення". Відповідно, в іншому аспекті, даний винахід пропонує спосіб лікування або

зниження тяжкості захворювання, стану або порушення, де гіперактивність або пасивність ABC-транспортера залучена до патологічного стану.

Активність сполуки, що використовується в даному винаході як модулятор ABC-транспортера, можна оцінити згідно зі способами, описаними, в основному, в даній галузі і в Прикладах даного опису.

Потрібно розуміти, що сполуки і фармацевтично прийнятні композиції за даним винаходом можуть бути використані в комбінованих лікуваннях, тобто, сполуки і фармацевтично прийнятні композиції можна застосовувати одночасно з, до або після однієї або декількох інших бажаних терапій або лікувальних процедур. Конкретну комбінацію лікувань (терапій або процедур), яку використовують згідно з комбінованою схемою лікування, зазвичай проводять з урахуванням сумісності проведення бажаних терапій і/або лікувальних процедур і очікуваної лікувальної дії. Потрібно також розуміти, що терапії, що використовуються, можуть забезпечувати досягнення бажаної лікувальної дії відносно одного і того ж розладу (наприклад, сполука, що заявляється, може вводиться одночасно з іншим засобом, що використовується для лікування такого ж розладу) або вони можуть забезпечувати досягнення дій різного характеру (наприклад, регуляція рівня будь-яких побічних дій). Як використано в даному описі, додаткові терапевтичні засоби, які зазвичай застосовують для лікування або профілактики конкретного захворювання або стану, відомі як "придатні при захворюванні або стані, що підлягає лікуванню".

Кількість додаткового лікувального засобу, присутнього в композиціях за даним винаходом, складає зазвичай не більше тієї кількості, яку зазвичай вводять з композицією, що містить вказаний додатковий лікувальний засіб як єдиний активний засіб. Переважно кількість додаткового лікувального засобу в розкритих в даному описі композиціях зазвичай коливається в межах від 50 до 100 % від кількості, зазвичай присутньої в композиції, що містить вказаний додатковий засіб як єдиний терапевтично активний засіб.

Сполуки за даним винаходом або фармацевтично прийнятні композиції на їх основі можуть бути також включені в композиції для покриття медичного інструмента, що імплантується, такого як протези, штучні клапани, судинні трансплантати, стенти і катетери. Відповідно, даний винахід, в іншому аспекті, включає, композицію для покриття інструмента, який імплантується, що містить сполуку за даним винаходом, описану, в основному, вище і представлену в даному описі в класах і підкласах, і носій, придатний для покриття вказаного інструмента, що імплантується. У наступному аспекті даний винахід включає інструмент, що імплантується, покритий композицією, що містить сполуку за даним винаходом, описану, в основному, вище і представлену в даному описі класами і підкласами, і носій, придатний для покриття вказаного медичного інструмента, що імплантується. Придатні покриття і загальне одержання медичних інструментів, що імплантуються, забезпечених покриттям, описані в патентах США № 6099562; 5886026 і 5304121. Покриття являють собою зазвичай біосумісні полімерні матеріали, такі як гідрогелевий полімер, поліметилдисилоксан, полікапролактон, поліетиленгліколь, полімолочна кислота, полімерстилен-вінілацетат і їх суміші. Покриття можуть бути необов'язково додатково покриті придатним верхнім шаром з фторсилікону, полісахаридів, поліетиленгліколю, фосфоліпідів або їх комбінацій для надання композиції властивостей контрольованого вивільнення.

Інший аспект даного винаходу належить до модуляції активності ABC-транспортера в біологічному зразку або у пацієнта (наприклад, *in vitro* або *in vivo*), і цей спосіб включає введення пацієнту або контактування вказаного біологічного зразка зі сполукою формули I або композицією, що містить вищезгадану сполуку. Термін "біологічний зразок", що використовується в даному описі, включає, без обмеження, клітинні культури або їх екстракти; біопат, одержаний вилученням у ссавця, або його екстракт; і кров, слину, сечу, фекалії, сперму, сльози або інші рідини, що містяться в організмі, або їх екстракти.

Модуляцію активності ABC-транспортера в біологічному зразку використовують для цілого ряду цілей, які відомі фахівцям середньої кваліфікації в даній галузі. Приклади таких цілей включають, але ними не обмежуючись, дослідження ролі ABC-транспортерів в біологічних і патологічних явищах; і порівняльну оцінку нових модуляторів ABC-транспортерів.

У черговому варіанті пропонується спосіб модуляції активності аніонного каналу *in vitro* або *in vivo*, що включає стадію контактування вказаного каналу зі сполукою, вибраною з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322. У переважних варіантах аніонний канал являє собою хлоридний канал або бікарбонатний канал. В інших переважних варіантах аніонний канал являє собою

хлоридний канал.

Згідно з альтернативним варіантом даний винахід пропонує спосіб збільшення кількості функціональних ABC-транспортів в мембрані клітини, що включає стадію контактування вказаної клітини зі сполукою, вибраною з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322. Термін "функціональний ABC-транспорт", що використовується в даному описі, означає ABC-транспорт, який здатний транспортувати активність. У переважних варіантах вищезгаданий функціональний ABC-транспорт являє собою CFTR.

Згідно з іншим переважним варіантом, активність ABC-транспортера визначають, вимірюючи трансмембранний потенціал напруги. Спосіб вимірювання потенціалу напруги крізь мембрану в біологічному зразку може використовувати будь-який з відомих способів в даній галузі, такий як оптичний метод вимірювання мембранного потенціалу або інші електрофізіологічні методи.

Оптичний метод вимірювання мембранного потенціалу використовує чутливі до напруги FRET датчики, описані Gonzalez і Tsien (див., Gonzalez, J.E. and R.Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" Biophys. J. 69(4): 1272-80, і Gonzalez, "J.E. and R.Y. Tsien (1997) Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" Chem Biol 4(4): 269-77), в комбінації з апаратурою для вимірювання змін флуоресценції, такою як Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (див., Gonzalez, J.E., K. Oades, et al. (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" Drug Discov Today 4(9): 431-439).

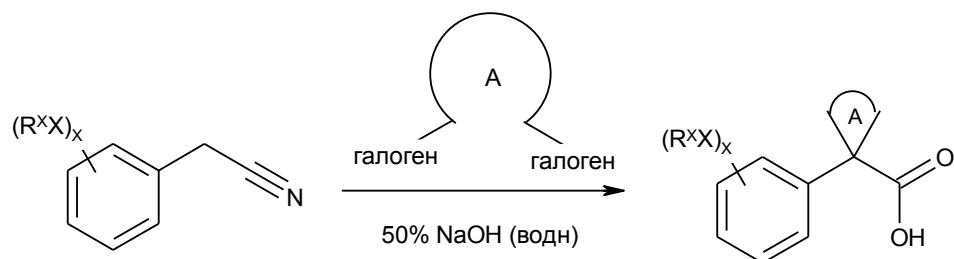
Ці чутливі до напруги випробування основані на зміні в резонансному перенесенні енергії флуоресценції (FRET) між розчинним в мембрані, чутливим до напруги барвником, DiSBAC<sub>2</sub>(3), і флуоресцентним фосфоліпідом, CC2-DMPE, який приєднаний до зовнішньої стінки плазматичної мембрани і діє як донор FRET. Зміни в мембранному потенціалі ( $V_m$ ) примушують негативно заряджений DiSBAC<sub>2</sub>(3) перерозподілятися крізь плазматичну мембрану, і при цьому величина перенесення енергії від CC2-DMPE змінюється, відповідно. Зміни у флуоресцентному випромінюванні можна контролювати, використовуючи VIPR™ II, який являє собою інтегрований рідинний маніпулятор і флуоресцентний детектор, призначений для проведення скринінгів з участю клітин в 96- або 384- ямкових мікротитраційних планшетах.

В іншому аспекті даний винахід пропонує набір для використання його для вимірювання активності ABC-транспортера або його фрагмента в біологічному зразку *in vitro* або *in vivo*, що містить (i) композицію, яка містить сполуку, вибрану з 312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322 або будь-який з вищевказаних варіантів; і (ii) інструкції для а.) контактування композиції з біологічним зразком і б.) вимірювання активності вказаного ABC-транспортера або його фрагмента. В одному варіанті набір додатково містить інструкції для а.) контактування додаткової композиції з біологічним зразком; б.) вимірювання активності вказаного ABC-транспортера або його фрагмента в присутності вказаної додаткової сполуки і с.) порівняння активності ABC-транспортера в присутності додаткової сполуки з густиною ABC-транспортера в присутності сполуки, вибраної з 308-312, 313, 315, 316, 318, 320 і 322. У переважних варіантах набір використовують для вимірювання густини CFTR.

Для більш повного розуміння описаного в даному контексті винаходу пропонуються нижченаведені приклади. Очевидно, що ці приклади наводяться тільки з ілюстративною метою і їх не треба розглядати як такі, що обмежують будь-яким чином даний винахід.

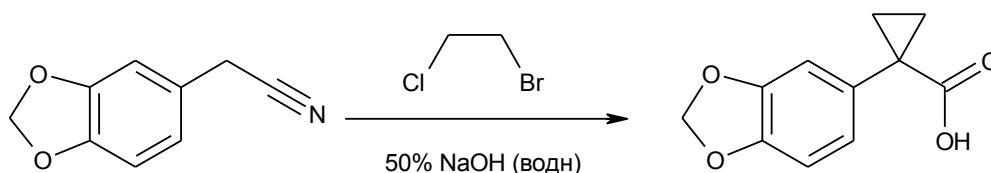
#### VI. ОДЕРЖАННЯ І ПРИКЛАДИ

Загальний спосіб I: Будівний блок карбонової кислоти



Бензилтриетиламонійхлорид (0,025 еквіваленти) і відповідну дигалогенідну сполуку (2,5 еквіваленти) додають до заміщеного фенілацетонітрилу. Суміш нагрівають при 70 °С і потім до суміші повільно додають 50 % гідроксид натрію (10 еквівалентів). Реакційну суміш перемішують при 70 °С протягом 12-24 годин, забезпечуючи при цьому повне утворення циклоалкільної частини, і потім нагрівають при 130 °С протягом 24-48 годин, гарантуючи при цьому повне перетворення нітрилу в карбонову кислоту. Реакційну суміш темно-коричневого/чорного кольору розбавляють водою і екстрагують дихлорметаном три рази для видалення побічних продуктів. Лужний водний розчин підкисляють концентрованою хлористоводневою кислотою до рН менше ніж 1 і осад, який почав утворюватися при рН 4, відфільтровують і промивають 1М хлористоводневою кислотою два рази. Тверду речовину розчиняють в дихлорметані і екстрагують два рази 1М хлористоводневою кислотою і один раз насиченим водним розчином хлориду натрію. Органічний розчин сушать над сульфатом натрію і упарюють досуха, одержуючи циклоалкілкарбонову кислоту. Вихід і чистота кінцевого продукту зазвичай вище, ніж 90 %.

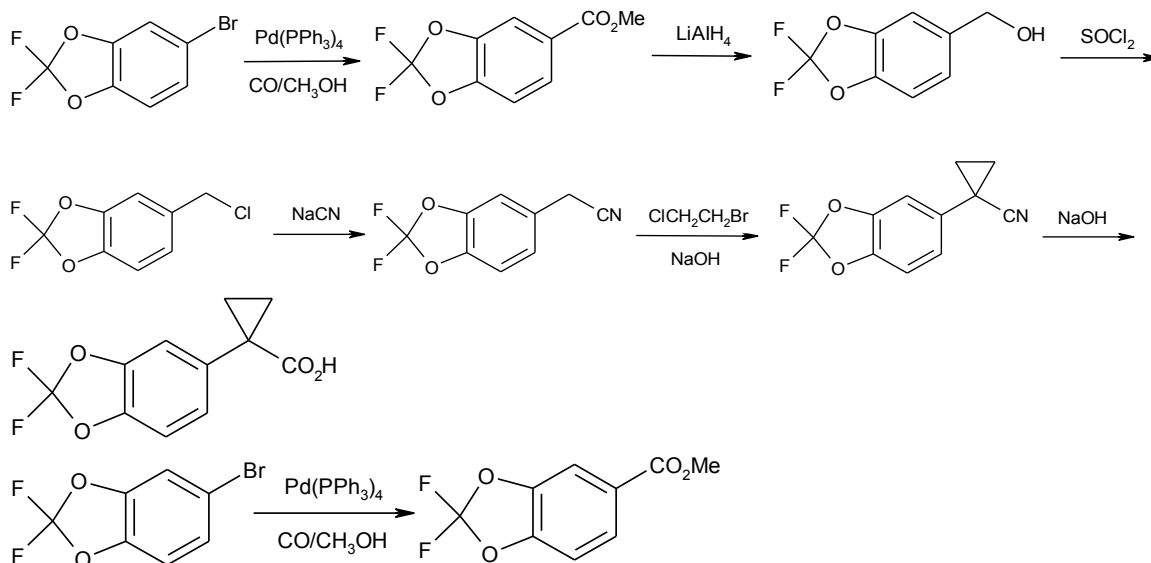
Приклад 1: 1-Бензо[1,3]діоксол-5-ілциклопропанкарбонова кислота



Суміш 2-(бензо[*d*][1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрилу (5,10 г, 31,7 ммоль), 1-бром-2-хлоретану (9,00 мл, 109 ммоль) і бензилтриетиламонійхлориду (0,181 г, 0,795 ммоль) нагрівають при 70 °С і потім до суміші повільно додають 50 % (мас./мас.) водний гідроксид натрію (26 мл). Реакційну суміш перемішують при 70 °С протягом 24 годин і потім нагрівають при 130 °С протягом 48 годин. Темно-коричневу реакційну суміш розбавляють водою (400 мл) і екстрагують один раз рівним об'ємом етилацетату і один раз рівним об'ємом дихлорметану. Лужний водний розчин підкисляють концентрованою хлористоводневою кислотою до рН менше ніж 1 і осад відфільтровують і промивають 1М хлористоводневою кислотою. Тверду речовину розчиняють в дихлорметані (400 мл) і екстрагують двічі рівними об'ємами 1М хлористоводневої кислоти і один раз насиченим водним розчином хлориду натрію. Органічний розчин сушать над сульфатом натрію і упарюють досуха, одержуючи тверду речовину, забарвлену в білий, але не зовсім білий, колір (5,23 г, 80 %). ESI-MS (мас-спектрометрія з електророзпилювальною іонізацією) *m/z* обчислено 206,1, знайдено 207,1 (*M*+1)<sup>+</sup>. Час утримання 2,37 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1,07-1,11 (м, 2H), 1,38-1,42 (м, 2H), 5,98 (с, 2H), 6,79 (м, 2H), 6,88 (м, 1H), 12,26 (с, 1H).

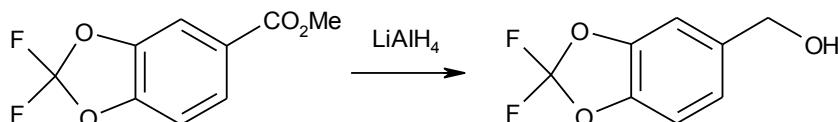
Приклад 2: 1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонова кислота





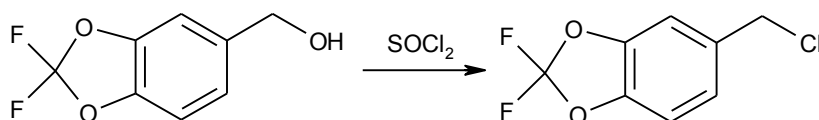
Метилловий ефір 2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-карбонової кислоти

Розчин 5-бром-2,2-дифторбензо[1,3]діоксолу (11,8 г, 50,0 ммоль) і тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0)  $[Pd(PPh_3)_4]$ , 5,78 г, 5,00 ммоль] в метанолі (20 мл), що містить ацетонітрил (30 мл) і триетиламін (10 мл), перемішують в атмосфері монооксиду вуглецю (55 фунт/кв. дюйм) при 75 °C (температура масляної бані) протягом 15 годин. Охолоджену реакційну суміш фільтрують і фільтрат упарюють досуха. Залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи неочищений метилловий ефір 2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-карбонової кислоти (11,5 г), який використовують безпосередньо на наступній стадії.



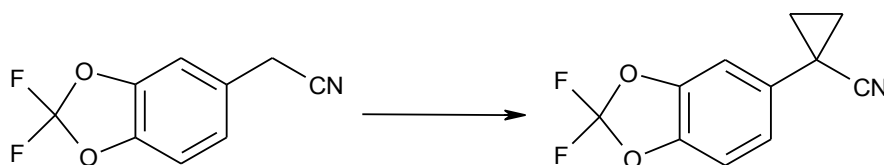
(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)метанол

Неочищений метилловий ефір 2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-карбонової кислоти (11,5 г), розчинений в 20 мл безводного тетрагідрофурану (ТГФ), повільно додають до суспензії літійалюмінігідриду (4,10 г, 106 ммоль) в безводному ТГФ (100 мл) при 0 °C. Потім суміш нагрівають до кімнатної температури. Після перемішування суміші при кімнатній температурі протягом 1 години, реакційну суміш охолоджують до 0 °C і обробляють водою (4,1 г), а потім гідроксидом натрію (10 % водний розчин, 4,1 мл). Одержану наважку фільтрують і промивають ТГФ. Об'єднаний фільтрат упарюють досуха і залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи (2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)метанол (7,2 г, 38 ммоль, 76 % за дві стадії) у вигляді безбарвного масла.



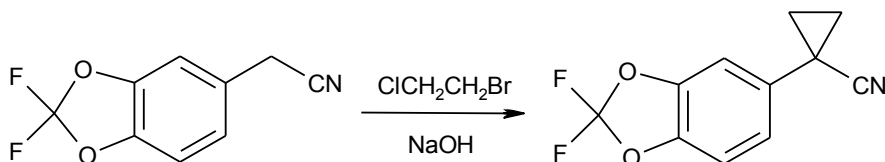
5-хлорметил-2,2-дифторбензо[1,3]діоксол

Тіонілхлорид (45 г, 38 ммоль) повільно додають до розчину (2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)метанолу (7,2 г, 38 ммоль) в дихлорметані (200 мл) при 0 °C. Одержану суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі і потім упарюють досуха. Залишок розподіляють між водним розчином насиченого бікарбонату натрію (100 мл) і дихлорметаном (100 мл). Відділений водний шар екстрагують дихлорметаном (150 мл) і органічний шар сушать над сульфатом натрію, фільтрують і упарюють досуха, одержуючи неочищений 5-хлорметил-2,2-дифторбензо[1,3]діоксол (4,4 г), який використовують безпосередньо на наступній стадії.



(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрил

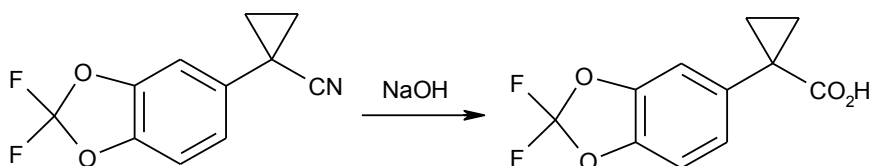
Суміш неочищеного 5-хлорметил-2,2-дифторбензо[1,3]діоксолу (4,4 г) і ціаніду натрію (1,36 г, 27,8 ммоль) в диметилсульфоксиді (50 мл) перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш виливають в лід і екстрагують етилацетатом (300 мл). Органічний шар сушать над сульфатом натрію і упарюють досуха, одержуючи неочищений (2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрил (3,3 г), який використовують безпосередньо на наступній стадії.



1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонітрил

Гідроксид натрію (50 % водний розчин, 10 мл) повільно додають до суміші неочищеного (2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрилу, бензилтриетиламонійхлориду (3,00 г, 15,3 ммоль) і 1-бром-2-хлоретану (4,9 г, 38 ммоль) при 70 °С.

Суміш перемішують протягом ночі при 70 °С, перш ніж реакційну суміш розбавляють водою (30 мл) і екстрагують етилацетатом. Об'єднані органічні шари сушать над сульфатом натрію і упарюють досуха, одержуючи неочищений 1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонітрил, який використовують безпосередньо на наступній стадії.



1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонова кислота

1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонітрил (неочищений з останньої стадії) кип'ятять зі зворотним холодильником у 10 % водному гідроксиді натрію (50 мл) протягом 2,5 годин. Охолоджену реакційну суміш промивають діетиловим ефіром (100 мл) і водну фазу підкисляють до pH 2 за допомогою 2М хлористоводневої кислоти. Осаджену тверду речовину відфільтровують, одержуючи 1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонову кислоту у вигляді білої твердої речовини (0,15 г, 1,6 % за чотири стадії).

ESI-MS  $m/z$  обчислено, 242,04, знайдено 241,58 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H ЯМР ( $\text{COCl}_2$ )  $\delta$  7,14-7,04 (м, 2H), 6,98-6,96 (м, 1H), 1,74-1,64 (м, 2H), 1,26-1,08 (м, 2H).

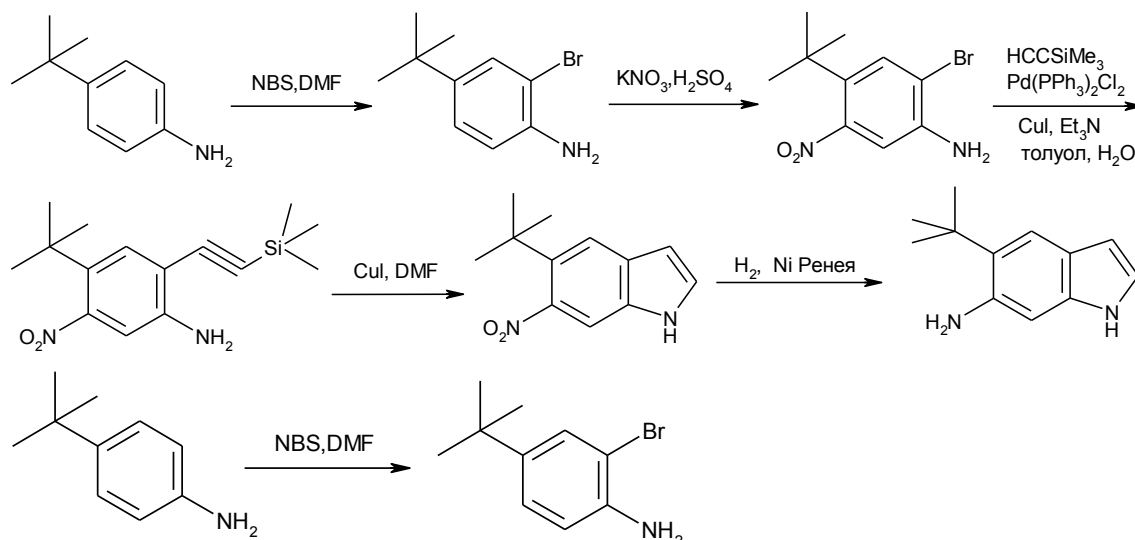
Нижченаведена таблиця 2 містить перелік будівних блоків карбонової кислоти, які комерційно доступні або одержані одним їх трьох способів, описаних вище:

Таблиця 2

Будівні блоки карбонової кислоти

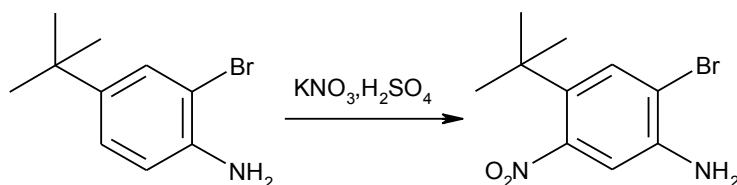
Назва	Структура
1-бензо[1,3]діоксол-5-ілциклопропан-1-карбонова кислота	
1-(2,2-дифторбензо[1,3]діоксол-5-іл)циклопропан-1-карбонова кислота	

Приклад 3: 5-трет-бутил-1H-індол-6-іламін



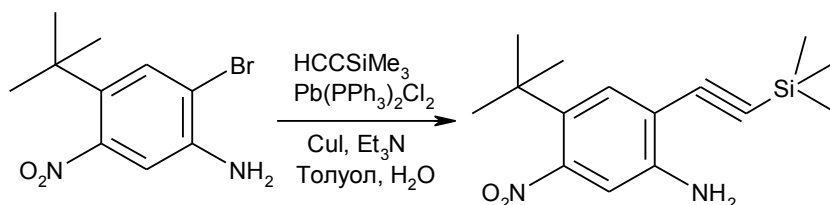
#### 5 2-Бром-4-трет-бутилфеніламін

До розчину 4-трет-бутилфеніламіну (447 г, 3,00 моль) в ДМФА (DMF) (500 мл) додають по краплях NBS (531 г, 3,00 моль) в ДМФА (500 мл) при кімнатній температурі. Після завершення додавання реакційну суміш розбавляють водою і екстрагують EtOAc. Органічний шар промивають водою, насиченим розчином солі, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрують. Неочищений продукт безпосередньо використовують на наступній стадії без додаткового очищення.



#### 15 2-Бром-4-трет-бутил-5-нітрофеніламін

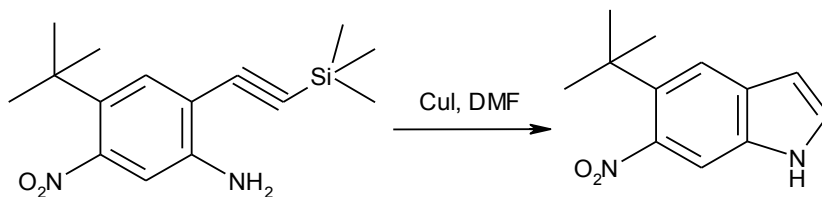
2-Бром-4-трет-бутилфеніламін (160 г, 0,71 моль) додають по краплях до  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (410 мл) при кімнатній температурі, одержуючи прозорий розчин. Потім цей прозорий розчин охолоджують до температури від  $-5$  до  $-10$  °C. По краплях додають розчин  $\text{KNO}_3$  (83 г, 0,82 моль) в  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (410 мл), в той час як температуру підтримують між  $-5$  і  $-10$  °C. Після завершення додавання реакційну суміш виливають в суміш лід/воду і екстрагують EtOAc. Об'єднані органічні шари промивають 5 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  і насиченим розчином солі, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрують. Залишок очищують колонковою хроматографією (суміш етилацетат/петролейний ефір 1:10), одержуючи 2-бром-4-трет-бутил-5-нітрофеніламін у вигляді жовтої твердої речовини (150 г, 78 %).



#### 25 4-трет-бутил-5-нітро-2-триметилсиланілетинілфеніламін

До суміші 2-бром-4-трет-бутил-5-нітрофеніламіну (27,3 г, 100 ммоль) в толуолі (200 мл) і води (100 мл) додають  $\text{Et}_3\text{N}$  (27,9 мл, 200 ммоль),  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (2,11 г, 3,00 ммоль),  $\text{CuI}$  (950 мг, 0,500 ммоль) і триметилсилілацетилен (21,2 мл, 150 ммоль) в атмосфері азоту. Реакційну суміш нагрівають при  $70$  °C в герметично закритій колбі високого тиску протягом 2,5 год., охолоджують до кімнатної температури і фільтрують через нетовстий шар целіту. Осад на фільтрі промивають EtOAc. Об'єднаний фільтрат промивають 5 % розчином  $\text{NH}_4\text{OH}$  і водою, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрують. Неочищений продукт очищують колонковою хроматографією (суміш

0-10 % етилацетату/петролейний ефір), одержуючи 4-трет-бутил-5-нітро-2-триметилсиланілінфеніламін у вигляді коричневої в'язкої рідини (25 г, 81 %).

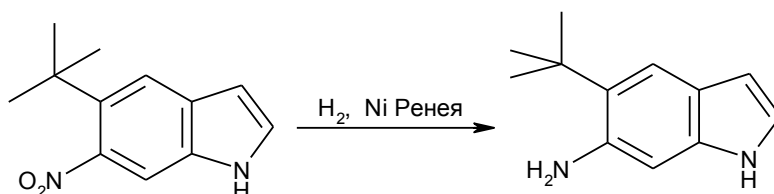


5

#### 5-трет-бутил-6-нітро-1H-індол

До розчину 4-трет-бутил-5-нітро-2-триметилсиланілінфеніламіну (25 г, 86 ммоль) в ДМФА (100 мл) додають CuI (8,2 г, 43 ммоль) в атмосфері азоту. Суміш нагрівають при 135 °C в герметично закритій колбі високого тиску протягом ночі, охолоджують до кімнатної температури і фільтрують через нетовстий шар целіту. Осад на фільтрі промивають EtOAc. Об'єднаний фільтрат промивають водою, сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрують. Неочищений продукт очищують колонковою хроматографією (суміш 10-20 % етилацетату/гексан), одержуючи 5-трет-бутил-6-нітро-1H-індол у вигляді жовтої твердої речовини (13 г, 69 %).

10



15

#### 5-трет-бутил-1H-індол-6-іламін

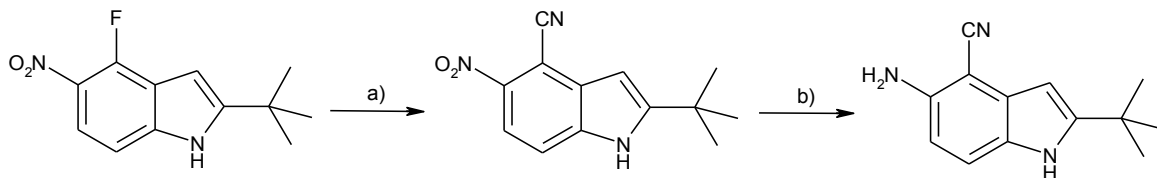
Нікель Ренея (3 г) додають до 5-трет-бутил-6-нітро-1H-індолу (15 г, 67 ммоль) в метанолі (100 мл). Суміш перемішують в атмосфері водню (1 атм) при 30 °C протягом 3 год. Каталізатор відфільтровують. Фільтрат сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрують. Неочищене темно-коричнє в'язке масло очищують колонковою хроматографією (суміш 10-20 % етилацетату/петролейний ефір), одержуючи 5-трет-бутил-1H-індол-6-іламін у вигляді сірої твердої речовини (11 г, 87 %).

20

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,3 (ушир.с, 1H), 7,2 (с, 1H), 6,9 (м, 1H), 6,6 (с, 1H), 6,1 (м, 1H), 4,4 (ушир.с, 2H), 1,3 (с, 9H).

25

#### Приклад 4: 5-Аміно-2-трет-бутил-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрил



30

а) KCN, ДМСО; б) Pd/C, EtOAc.

#### Стадія а: 2-трет-бутил-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрил

До розчину 2-трет-бутил-4-фтор-5-нітро-1H-індолу (4,0 г, 17 ммоль) в ДМСО (30 мл) додають KCN (3,4 г, 51 ммоль). Суміш перемішують при 70 °C протягом 3 годин, і виливають у воду (80 мл) і екстрагують етилацетатом (50 мл × 3). Об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрують у вакуумі. Залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (7 % EtOAc в петролейному ефірі), одержуючи 2-трет-бутил-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрил (2,2 г, 53 %).

35

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО, 300 МГц) δ 12,23 (ушир.с, 1H), 8,09 (д, J=9,0 Гц, 1H), 7,75 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,50 (с, 1H), 1,38 (с, 9H). MS (ESI) m/z: 244,2 [M+H<sup>+</sup>].

40

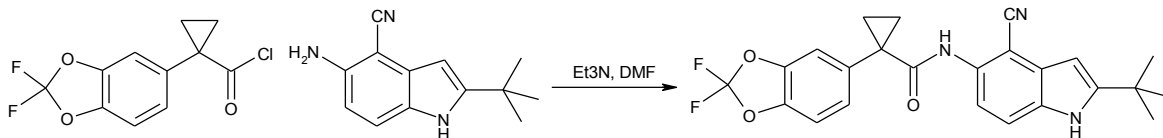
#### Стадія б: 5-Аміно-2-трет-бутил-1H-індол-4-карбонітрил

До розчину 2-трет-бутил-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрилу (550 мг, 2,3 ммоль) в EtOAc (10 мл) додають Ni Ренея (0,1 г) в атмосфері азоту. Суміш перемішують в атмосфері водню (1 атм.)

при кімнатній температурі протягом 1 год. Каталізатор відфільтровують через целіт і фільтрат упарюють у вакуумі, одержуючи 5-аміно-2-трет-бутил-1H-індол-4-карбонітрил (250 мг, 51 %).

$^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО, 300 МГц)  $\delta$  10,93 (ушир.с, 1H), 7,25 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 6,49 (д,  $J=8,7$  Гц, 1H), 5,94 (д,  $J=2,1$  Гц, 1H), 5,40 (ушир.с, 2H), 1,30 (с, 9H). MS (ESI)  $m/z$ : 214,0 [ $M+H^+$ ].

5 Приклад 6: N-(2-трет-бутил-4-ціано-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

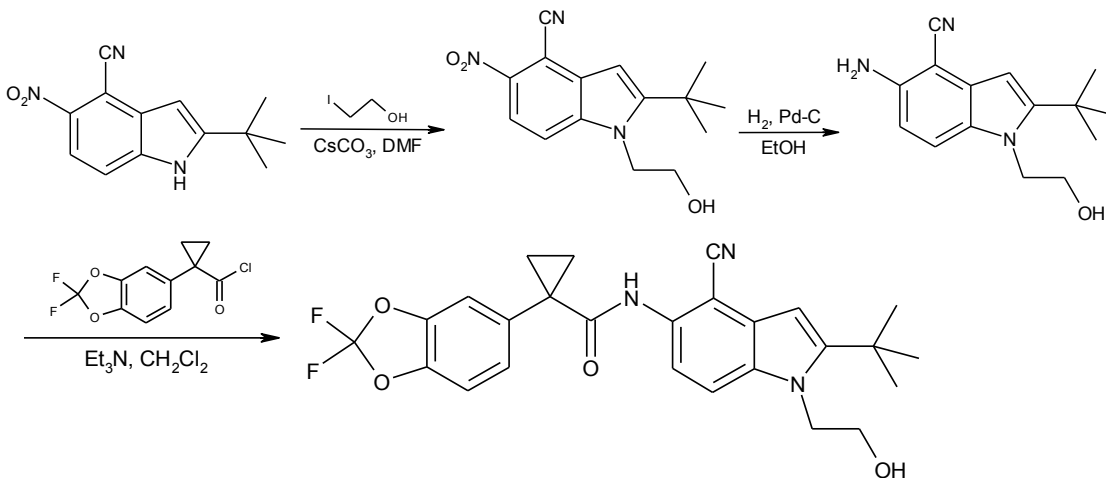


10 Стадія а: N-(2-трет-бутил-4-ціано-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонілхлорид (26 мг, 0,1 ммоль) додають до розчину 5-аміно-2-трет-бутил-1H-індол-4-карбонітрилу (21 мг, 0,1 ммоль) і триетиламіну (41,7 мкл, 0,3 ммоль) в ДМФА (1 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, потім фільтрують і очищують ВЕРХ із оберненою фазою, одержуючи продукт, N-(2-трет-бутил-4-ціано-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід. ESI-MS  $m/z$  обчислено 437,2, знайдено 438,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,10 хвилин.

20  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  11,48 (с, 1H), 8,88 (с, 1H), 7,52 (д,  $J=8,5$  Гц, 2H), 7,41 (д,  $J=8,3$  Гц, 1H), 7,32 (дд,  $J=1,5, 8,3$  Гц, 1H), 7,03 (д,  $J=8,6$  Гц, 1H), 6,21 (д,  $J=1,8$  Гц, 1H), 1,51-1,49 (м, 2H), 1,36 (с, 9H), 1,18-1,16 (м, 2H).

Приклад 7: N-(2-трет-бутил-4-ціано-1-(2-гідроксіетил)-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



25

Стадія а: 2-трет-бутил-1-(2-гідроксіетил)-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрил

30 Суміш 2-трет-бутил-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрилу (200 мг, 0,82 ммоль), 2-йодетанолу (77 мкл, 0,98 ммоль), карбонату цезію (534 мг, 1,64 ммоль) і ДМФА (1,3 мл) нагрівають до 90 °C протягом ночі. Потім додають додаткову кількість 2-йодетанолу (77 мкл, 0,98 ммоль) і реакційну суміш перемішують при 90 °C протягом 3 днів. Реакційну суміш розподіляють між етилацетатом і водою. Водний шар промивають етилацетатом і потім об'єднані етилацетатні шари промивають водою ( $\times 3$ ) і насиченим розчином солі, сушать над  $\text{MgSO}_4$  і концентрують. Залишок очищують колонковою хроматографією (50-100 %  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  - гексани), одержуючи продукт у вигляді жовтої твердої речовини (180 мг, чистота ~25 % згідно з ЯМР, продукт елюють спільно з вихідним продуктом індолу). ESI-MS  $m/z$  обчислено 287,1, знайдено 288,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,59 хвилин.

40  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  12,23 (с, 1H), 8,14 (д,  $J=9,1$  Гц, 1H), 8,02 (д,  $J=9,1$  Гц, 1H), 6,60 (с, 1H), 5,10 (т,  $J=5,5$  Гц, 1H), 4,55 (т,  $J=6,3$  Гц, 2H), 3,78-3,73 (м, 2H) і 1,49 (с, 9H) ppm.

Стадія б: 5-Аміно-2-трет-бутил-1-(2-гідроксіетил)-1H-індол-4-карбонітрил

До розчину 2-трет-бутил-1-(2-гідроксіетил)-5-нітро-1H-індол-4-карбонітрилу (180 мг, 0,63 ммоль) в етанолі (6 мл) в атмосфері  $\text{N}_2$  додають Pd-C (5 % мас., 18 мг). Реакційну суміш

продувають  $N_2$  (газ) і потім  $H_2$  (газ) і перемішують в атмосфері  $H_2$  (атм.) при кімнатній температурі протягом 1,5 годин. Реакційну суміш фільтрують через целіт і концентрують, одержуючи продукт (150 мг, 93 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 257,2, знайдено 258,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup> Час утримування 1,26 хвилин.

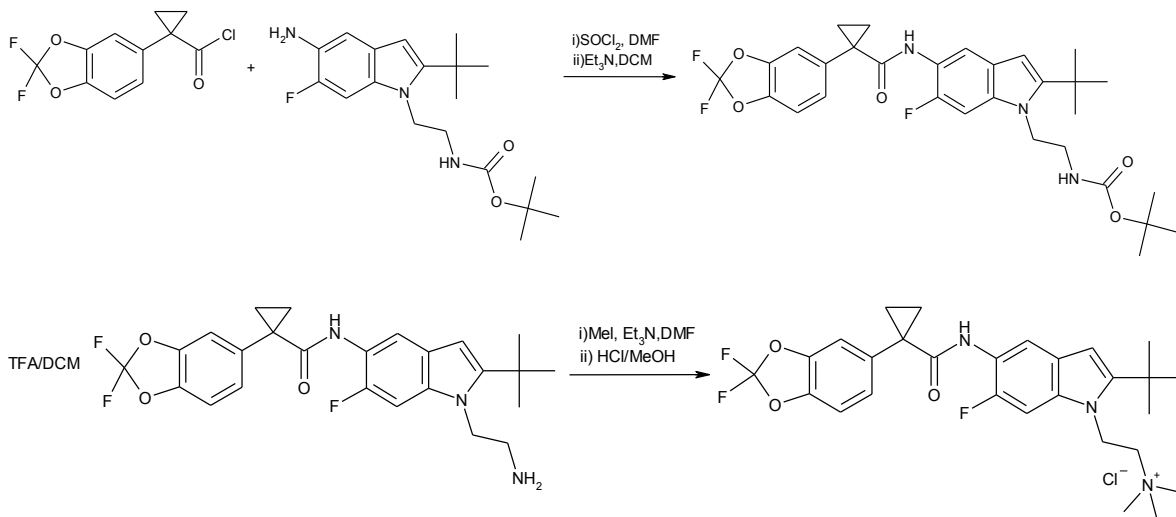
5 Стадія с: N-(2-трет-бутил-4-ціано-1-(2-гідроксіетил)-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонілхлорид (196 мг, 0,75 ммоль) додають до розчину 5-аміно-2-трет-бутил-1-(2-гідроксіетил)-1H-індол-4-карбонітрилу (150 мг, 0,58 ммоль) і триетиламіну (242 мкл, 1,74 ммоль) в дихлорметані (2 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш розбавляють дихлорметаном і екстрагують 1N розчином HCl (×2), насиченим розчином  $NaHCO_3$  (×2), насиченим розчином солі, сушать над  $MgSO_4$ , фільтрують і концентрують. Залишок розчиняють в ДМСО і очищують ВЕРХ із оберненою фазою, одержуючи продукт, N-(2-трет-бутил-4-ціано-1-(2-гідроксіетил)-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл) циклопропанкарбоксамід.

ESI-MS  $m/z$  обчислено 481,2, знайдено 482,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,99 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ) δ 8,93 (с, 1H), 7,71 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,42 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,33 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,08 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,28 (с, 1H), 5,05 (т, J=5,6 Гц, 1H), 4,42 (т, J=6,8 Гц, 2H), 3,70-3,65 (м, 2H), 1,51-1,48 (м, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,19-1,16 (м, 2H).

Приклад 8: 2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)-N,N,N-триметилетанамінійхлорид



25 Стадія а: трет-бутил-2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)етилкарбамат

До 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти (90,14 мг, 0,3722 ммоль) в тіонілхлориді (81,28 мкл, 1,117 ммоль) додають N,N-диметилформамід (8,204 мкл, 0,1064 ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, перш ніж видалити з неї у вакуумі надмірний тіонілхлорид і N,N-диметилформамід, одержуючи хлорангідрид кислоти. Потім хлорангідрид кислоти розчиняють в дихлорметані (1,5 мл) і повільно додають до розчину трет-бутил 2-(5-аміно-2-трет-бутил-6-фтор-1H-індол-1-іл)етилкарбамату (156,1 мг, 0,4467 ммоль) і триетиламіну (155,6 мкл, 1,117 ммоль) в дихлорметані (1,5 мл). Одержану реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 21 години. Реакційну суміш розбавляють дихлорметаном (5 мл) і промивають 1N водним HCl (5 мл) і насиченим водним розчином  $NaHCO_3$  (5 мл). Органічний шар сушать над  $Na_2SO_4$ , фільтрують і упарюють при зниженому тиску. Неочищений продукт очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш 0-30 % етилацетату в гексані), одержуючи трет-бутил-2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)етилкарбамат у вигляді білої твердої речовини (140 мг, 66 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 573,2, знайдено 574,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,41 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400,0 МГц, ДМСО) δ 8,35 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,44-7,41 (м, 2H), 7,34-7,29 (м, 2H), 7,13-7,10 (м, 1H), 6,17 (с, 1H), 4,24-4,20 (м, 2H), 3,20-3,17 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,41 (с, 18H) і 1,15-1,12 (м, 2H) ppm.

Стадій b: N-(1-(2-аміноетил)-2-трет-бутил-6-фтор-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

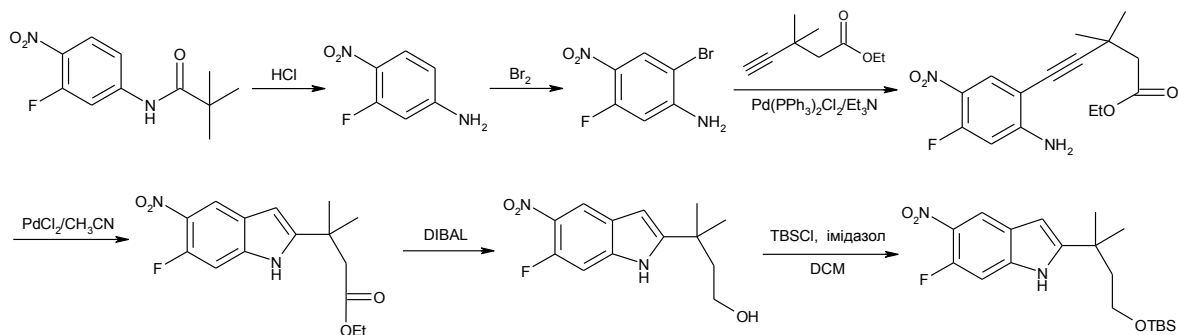
До розчину трет-бутил-2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)етилкарбамату (137,5 мг, 0,24 ммоль) в дихлорметані (1,8 мл) додають трифтороцтову кислоту (444 мкл, 5,8 ммоль) і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Реакційну суміш розбавляють дихлорметаном і промивають насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$  (3 мл) і насиченим розчином солі (3 мл). Органічний шар сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і упарюють при зниженому тиску. Неочищений продукт очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш 0-10 % метанолу в дихлорметані), одержуючи N-(1-(2-аміноетил)-2-трет-бутил-6-фтор-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамід у вигляді білої твердої речовини (93,7 мг, 82 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 473,19, знайдено 474,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,61 хвилини.

Стадія c: 2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)-N,N,N-триметилетанамінійхлорид

До прозорого розчину N-(1-(2-аміноетил)-2-трет-бутил-6-фтор-1H-індол-5-іл)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксаміду (50 мг, 0,1056 ммоль) в N,N-диметилформаміді (1 мл), додають метилйодид (336,8 мг, 147,7 мкл, 2,37 ммоль) і триетиламін (106,9 мг, 147,2 мкл, 1,05 ммоль) і суміш нагрівають при 80 °C протягом 2 годин. Неочищений продукт очищують ВЕРХ із оберненою фазою. 22 мг цього продукту розчиняють в 1,25 М  $\text{HCl}$  в метанолі (112 мкл, 0,14 ммоль) і нагрівають при 60 °C протягом 1 години. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури. Продукт спочатку сушать і потім розчиняють в дихлорметані і сушать знову. Цю процедуру повторюють чотири рази, одержуючи 2-(2-трет-бутил-5-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-6-фтор-1H-індол-1-іл)-N,N,N-триметилетанамінійхлорид. ESI-MS  $m/z$  обчислено 516,25, знайдено 516,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,69 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400,0 МГц,  $\text{DMSO}$ )  $\delta$  8,43 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,45-7,41 (м, 2H), 7,36-7,31 (м, 2H), 6,27 (с, 1H), 4,74-4,70 (м, 2H), 3,57-3,53 (м, 2H), 3,29 (с, 9H), 1,48-1,42 (м, 11H) і 1,15 (дд,  $J=3,9$ , 6,8 Гц, 2H) ppm.

Приклад 9: 2-(4-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол



Стадія а: 3-фтор-4-нітроанілін

Суміш N-(3-фтор-4-нітрофеніл)-2,2-диметилпропіонаміду (87,0 г, 0,36 моль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (400 мл) і 6N хлористоводневої кислоти (800 мл) нагрівають при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом 2 годин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури. Реакційну суміш розбавляють 1000 мл етилацетату і порціями додають карбонат калію (500,0 г). Водний розчин відділяють і органічний шар промивають насиченим розчином солі і сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчинник видаляють випаровуванням при зниженому тиску; залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 30:1), одержуючи 3-фтор-4-нітроанілін (56,0 г, 99 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,07 (т,  $J=8,7$  Гц, 1H), 7,86 (дд,  $J=2,1$ , 13,2 Гц, 1H), 7,59 (ушир.с, 2H), 7,22 (с, 1H).

Стадія b: 2-бром-5-фтор-4-нітроанілін

До розчину 3-фтор-4-нітроаніліну (56 г, 0,36 моль) в оцтовій кислоті (500 мл) додають по краплях бром (17,7 мл, 0,36 моль) протягом 1 години. Реакційну суміш перемішують протягом 1 години при 0-5 °C на бані з льодом. Реакційну суміш підлучнюють насиченим  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  і екстрагують етилацетатом (200 мл  $\times$  3). Об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують при зниженому тиску,

одержуючи залишок, який очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 10:1), одержуючи 2-бром-5-фтор-4-нітроанілін (45,6 г, 84 %) у вигляді жовтої твердої речовини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,29 (д, J=7,6 Гц, 1H), 6,53 (д, J=12,4 Гц, 1H), 4,94 (ушир.с, 2H).

5 Стадія с: етил-5-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-3,3-диметилпент-4-иноат

До розчину 2-бром-5-фтор-4-нітроаніліну (45,7 г, 0,19 моль) і етил 3,3-диметилпент-4-иноату (88,3 г, 0,57 моль) в Et<sub>3</sub>N (700 мл) додають Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (13,8 г, 0,02 моль) і CuI (3,6 г, 0,02 моль) в атмосфері N<sub>2</sub>. Реакційну суміш перемішують при 70 °С протягом 8 годин. Реакційну суміш розбавляють 500 мл етилацетату і 1500 мл води. Органічний шар відділяють і водну фазу екстрагують етилацетатом (500 мл × 3), об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі і сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і упарюють при зниженому тиску і залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 10:1), одержуючи етил-5-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-3,3-диметилпент-4-иноат (34,5 г, 57 %).

15 <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,05 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,36 (д, J=13,2 Гц, 1H), 5,60 (ушир.с, 2H), 4,16 (кв, J=7,2 Гц, 2H), 2,51 (с, 2H), 1,40 (с, 6H), 1,28 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Стадія d: етил 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутаноат

Суміш етил 5-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-3,3-диметилпент-4-иноату (34,5 г, 0,11 моль) і PdCl<sub>2</sub> (10,4 г, 58,6 нмоль) в CH<sub>3</sub>CN (350 мл) нагрівають при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом 1,5 годин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури. Додають етилацетат (300 мл), осад відфільтровують і промивають метанолом. Фільтрат концентрують при зниженому тиску і залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 40:1), одержуючи етил 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутаноат (34,0 г, 98 %) у вигляді темно-жовтої твердої речовини.

25 <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,11 (ушир.с, 1H), 8,30 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,14 (д, J=11,7 Гц, 1H), 6,35 (д, J=1,5 Гц, 1H), 4,17 (кв, J=7,2 Гц, 2H), 2,69 (с, 2H), 1,51 (с, 6H), 1,25 (т, J=7,2 Гц, 3H).

Стадія e: 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол

До розчину етил 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутаноату (34 г, 0,11 моль) в сухому CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (400 мл) додають по краплях DIBAL-H (283,4 мл, 0,27 моль) протягом 2 годин при -78 °С. Реакційну суміш перемішують протягом 10 годин при -78 °С і потім гасять додаванням води (200 мл). Осад відфільтровують і промивають метанолом. Фільтрат екстрагують CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 мл × 3), об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі, сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрують при зниженому тиску. Залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 50:1), одержуючи 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол (6,6 г, 22 %).

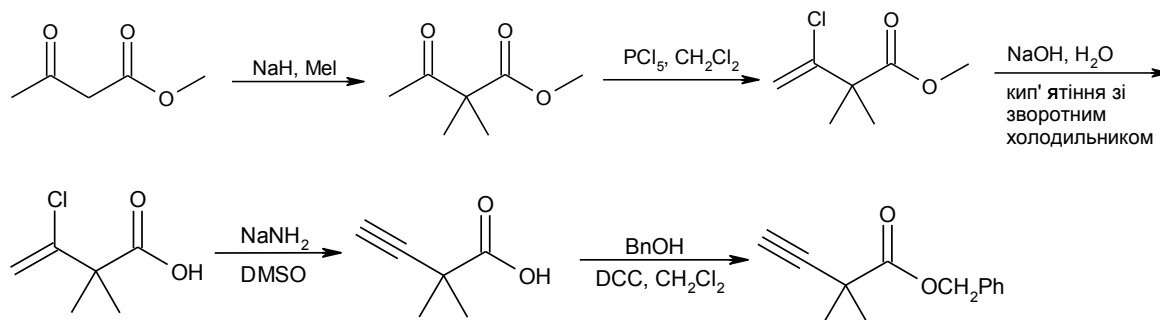
35 <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,35 (ушир.с, 1H), 8,30 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,11 (д, J=12,0 Гц, 1H), 6,35 (д, J=1,2 Гц, 1H), 3,74 (т, J=6,4 Гц, 2H), 1,9 (т, J=6,4 Гц, 2H), 1,4 (с, 6H).

Стадія f: 2-(4-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол

До розчину 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу (6,6 г, 25 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80 мл) додають TBSCl (3,7 г, 25 ммоль) і імідазол (4,2 г, 62 ммоль) при 0 °С. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 12 годин. Осад відфільтровують і промивають метанолом. Фільтрат концентрують при зниженому тиску. Залишок очищують колонковою хроматографією на силікагелі (суміш петролейний ефір/етилацетат 10:1), одержуючи цільовий продукт у вигляді коричневої твердої речовини (5,0 г, 53 %).

45 <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,80 (ушир.с, 1H), 8,30 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,05 (д, J=11,7 Гц, 1H), 6,33 (т, J=1,2 Гц, 2H), 3,7 (т, J=6,0 Гц, 2H), 1,91 (т, J=6,0 Гц, 2H), 1,42 (с, 6H), 0,94 (с, 9H), 0,12 (с, 6H). MS (ESI) m/z (M+H<sup>+</sup>): 381,1.

Приклад 10: бензил-2,2-диметилбут-3-иноат





Стадія а: метил-2,2-диметил-3-оксобутаноат

До суспензії NaH (28,5 г, 0,718 моль, 60 %) в ТГФ (270 мл) додають по краплях розчин метилового ефіру 3-оксомасляної кислоти (78,6 г, 0,677 моль) в ТГФ (70 мл) при 0 °С. Суміш перемішують протягом 0,5 годин при 0 °С. MeI (99,0 г, 0,698 моль) додають по краплях при 0 °С. Одержану суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом 1 години. NaH (28,5 г, 0,718 моль, 60 %) додають порціями при 0 °С і одержану суміш продовжують перемішувати протягом 0,5 год. при 0 °С. Потім по краплях при 0 °С додають MeI (99,0 г, 0,698 ммоль). Реакційну суміш нагрівають до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Суміш виливають в талу воду. Органічний шар відділяють. Водну фазу екстрагують EtOAc (300 мл × 3). Об'єднані органічні шари сушать і упарюють при зниженому тиску, одержуючи метил-2,2-диметил-3-оксобутаноат (52 г, 53 %), який використовують безпосередньо на наступній стадії.

Стадія b: метил-3-хлор-2,2-диметилбут-3-еноат

До суспензії PCl<sub>5</sub> (161 г, 0,772 моль) в дихлорметані (600 мл) додають по краплях метил 2,2-диметил-3-оксобутаноат (52 г, 0,361 моль, неочищений з останньої стадії) при 0 °С, з подальшим додаванням приблизно 20 крапель сухого ДМФА. Суміш нагрівають при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом ночі. Після охолодження реакційну суміш попільно виливають в талу воду. Органічний шар відділяють і водну фазу екстрагують дихлорметаном (300 мл × 3). Об'єднані органічні шари промивають насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub> і сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Розчинник випаровують, одержуючи продукт, метил 3-хлор-2,2-диметилбут-3-еноат, який використовують без додаткового очищення (47 г, 82 %).

Стадія c: 3-хлор-2,2-диметилбут-3-енова кислота

Суміш метил 3-хлор-2,2-диметилбут-3-еноату (42,0 г, 0,26 моль) і NaOH (12,4 г, 0,31 моль) у воді (300 мл) нагрівають при температурі кипіння зі зворотним холодильником протягом ночі. Після охолодження реакційну суміш екстрагують діетиловим ефіром. Органічний шар містить 20 г метил 3-хлор-2,2-диметилбут-3-еноату (48 % регенованого). Водний шар підкисляють холодним 20 % розчином HCl і екстрагують простим ефіром (250 мл × 3). Об'єднані органічні шари сушать і упарюють при зниженому тиску, одержуючи 3-хлор-2,2-диметилбут-3-енову кислоту (17 г, 44 %), яку використовують безпосередньо на наступній стадії.

Стадія d: 2,2-диметилбут-3-інова кислота

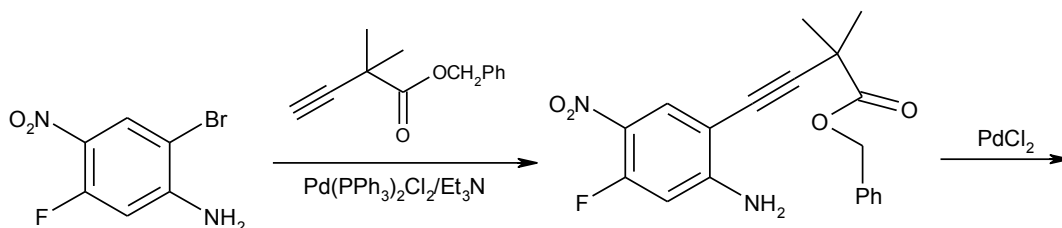
У тригорлу колбу (500 мл) додають NaNH<sub>2</sub> (17,8 г, 0,458 ммоль, гранули) і ДМСО (50 мл). Суміш перемішують при кімнатній температурі доти, поки не перестане виділятися NH<sub>3</sub> (газ). Розчин 3-хлор-2,2-диметилбут-3-енової кислоти (17,0 г, 114 ммоль) в ДМСО (50 мл) додають по краплях при 0 °С. Суміш нагрівають і перемішують при 50 °С протягом 5 годин, потім перемішують при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш виливають в холодний 20 % розчин HCl і потім екстрагують три рази простим ефіром. Ефірні екстракти сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрують, одержуючи відношення 6:1 вихідного продукту і продукту алкіну. Залишок знову сушать, використовуючи простий ефір і Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і знову піддають впливу вищезгаданих реакційних умов. Реакційну суміш обробляють таким же чином, одержуючи 2,2-диметилбут-3-інову кислоту (12,0 г, 94 %).

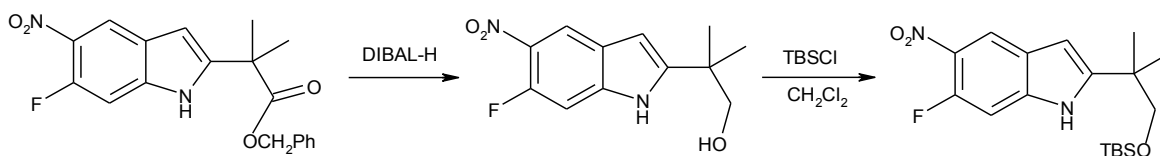
Бензил-2,2-диметилбут-3-іноат

До перемішаного розчину 2,2-диметилбут-3-інової кислоти (87,7 г, 0,782 ммоль) і бензильного спирту (114,6 г, 0,938 моль) в дихлорметані (800 мл) додають DCC (193,5 г, 0,938 ммоль) при -20 °С. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі і потім розчинник випарюють у вакуумі. Залишок очищують хроматографією на силікагелі (як елюент суміш 2 % етилацетату в петролейному ефірі), одержуючи бензил-2,2-диметилбут-3-іноат (100 г, вихід 59 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц) δ 7,37-7,36 (м, 5H), 5,19 (с, 2H), 2,28 (с, 1H), 1,52 (с, 6H).

Приклад 11: 2-(1-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилпропан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол





Стадія а: бензил-4-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-2,2-диметилбут-3-іноат

До розчину 2-бром-5-фтор-4-нітроаніліну (23,0 г, 0,1 моль) в Et<sub>3</sub>N (250 мл) додають бензил-2,2-диметилбут-3-іноат (59,0 г, 0,29 моль), CuI (1,85 г) і Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2,3 г) при кімнатній температурі. Суміш перемішують при 80 °С протягом ночі. Після охолодження до кімнатної температури реакцію гасять водою і водний шар екстрагують етилацетатом (100 мл × 3). Об'єднаний органічний шар сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, розчинник випарюють у вакуумі. Залишок очищують хроматографією на силікагелі (суміш 10 % етилацетату в петролейному ефірі), одержуючи бензил-4-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-2,2-диметилбут-3-іноат (20,0 г, 56 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,05 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,39-7,38 (м, 5H), 6,33 (д, J=13,2 Гц, 1H), 5,20 (с, 2H), 4,89 (ушир.с, 2H), 1,61 (с, 6H).

Стадія b: бензил-2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат

До розчину бензил-4-(2-аміно-4-фтор-5-нітрофеніл)-2,2-диметилбут-3-іноату (20,0 г, 56 ммоль) в ацетонітрилі (100 мл) додають PdCl<sub>2</sub> (5,0 г, 28 ммоль) при кімнатній температурі. Суміш перемішують при 80 °С протягом ночі. Суміш фільтрують і розчинник випарюють у вакуумі, залишок очищують хроматографією на силікагелі (суміш 10 % EtOAc в петролейному ефірі), одержуючи бензил-2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат (18,0 г, 90 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,96 (ушир.с, 1H), 8,33 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,35-7,28 (м, 5H), 7,08 (д, J=11,7 Гц, 1H), 6,47 (с, 1H), 5,18 (с, 2H), 1,69 (с, 6H).

Стадія c: 2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол

До розчину бензил-2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноату (18,0 г, 0,05 моль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 мл) додають DIBAL-H (12 мл) при -78 °С. Суміш перемішують протягом 1 год. при тій самій температурі і нагрівають до кімнатної температури. Реакцію гасять водою і водний шар екстрагують EtOAc (100 мл × 3). Об'єднані органічні шари сушать над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, розчинник випарюють у вакуумі. Залишок очищують хроматографією на силікагелі (суміш 10 % EtOAc в петролейному ефірі), одержуючи 2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол (10,0 г, 77 %).

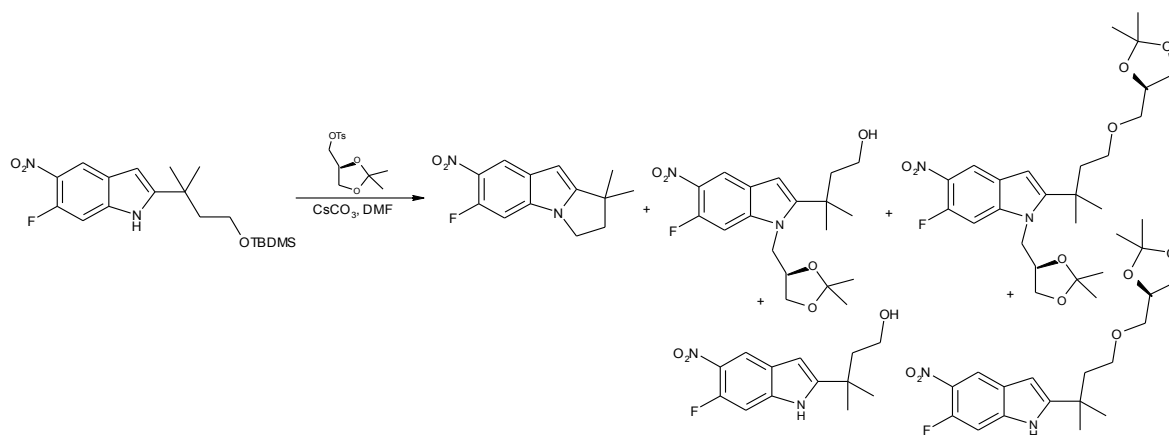
<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,37 (с, 1H), 8,32 (д, J=7,2 Гц, 1H), 7,11 (д, J=11,7 Гц, 1H), 6,36 (с, 1H), 3,73 (д, J=5,1 Гц, 2H), 1,97 (т, J=5,1 Гц, 1H), 1,39 (с, 6H).

Стадія d: 2-(1-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилпропан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол

До перемішаного розчину 2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-олу (10,0 г) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> додають TBSCl (8,9 г), імідазол (8,1 г, 0,12 моль) при кімнатній температурі. Суміш перемішують протягом ночі. Розчинник випарюють у вакуумі і залишок очищують хроматографією на силікагелі (суміш 10 % EtOAc в петролейному ефірі), одержуючи 2-(1-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилпропан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол (5,3 г, 38 %).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,51 (с, 1H), 8,31 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,02 (д, J=11,7 Гц, 1H), 6,32 (с, 1H), 3,63 (с, 2H), 1,35 (с, 6H), 0,99 (с, 9H), 0,11 (с, 6H).

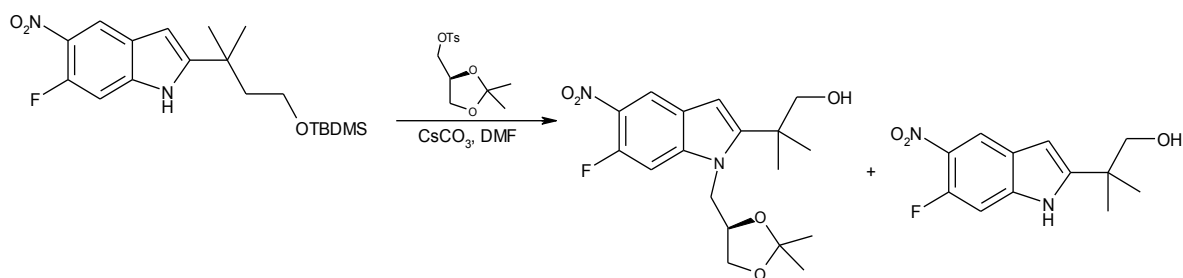
Приклад 12: 6-фтор-1,1-диметил-7-нітро-2,3-дигідро-1H-ніроло[1,2-а]індол, (R)-3-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол, 2-(4-((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-(((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол, 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол і (R)-2-(4-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол



Стадія а: 6-фтор-1,1-диметил-7-нітро-2,3-дигідро-1H-піроло[1,2-а]індол (R)-3-(1-((2,2-  
 5 диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол, 2-(4-((R)-  
 2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-(((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-  
 іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол, 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол і (R)-2-(4-  
 ((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індол

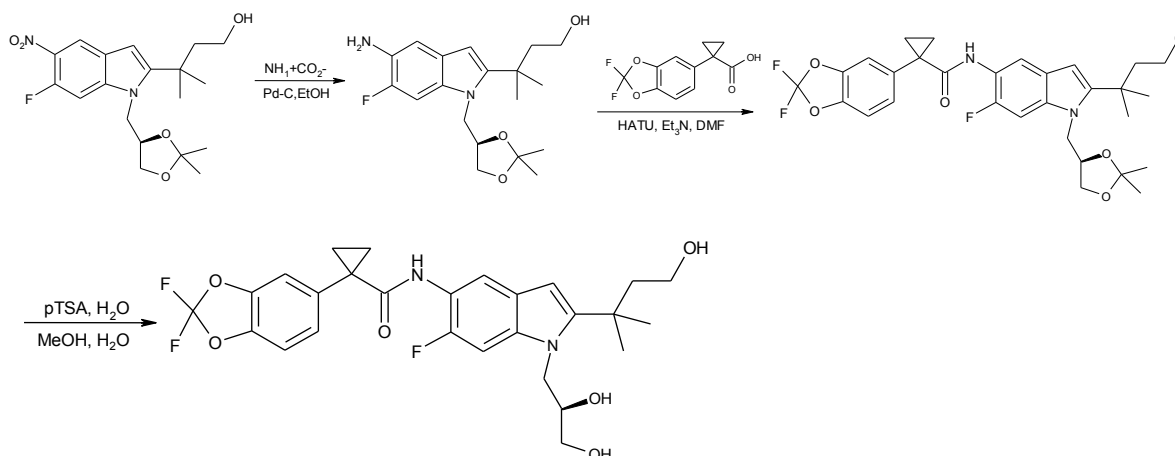
До розчину 2-(4-(трет-бутилдиметилсилілокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індолу  
 (1,9 г, 5,0 ммоль) і (S)-(2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 4-метилбензолсульфонату (2,86 г,  
 10,0 ммоль) в ДМФА (10 мл) додають Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,88 г, 15,0 ммоль). Суміш нагрівають при 90 °C  
 10 протягом 24 годин. Реакційну суміш розподіляють між етилацетатом і водою. Водний шар  
 екстрагують етилацетатом і об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі і  
 сушать над MgSO<sub>4</sub>. Після видалення розчинника залишок очищують колонковою  
 15 хроматографією (суміш 10-50 % етилацетату - гексан), одержуючи 6-фтор-1,1-диметил-7-нітро-  
 2,3-дигідро-1H-піроло[1,2-а]індол (600 мг, 48 %). ESI-MS m/z обчислено 248,1, знайдено 249,2  
 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 2,00 хвилини; 2-(4-(((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-  
 метилбутан-2-іл)-1-(((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол (270 мг,  
 що містить деяку кількість (R)-2-(4-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-  
 6-фтор-5-нітро-1H-індолу). ESI-MS m/z обчислено 494,2 і 380,2, знайдено 495,4 і 381,4 (M+1)<sup>+</sup>.  
 20 Час утримування 2,12 і 1,92 хвилин; (R)-3-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-  
 нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол (1,0 г, що містить деяку кількість 3-(6-фтор-5-нітро-1H-  
 індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу). ESI-MS m/z обчислено 380,2 і 266,1, знайдено 381,2 і 267,2  
 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,74 і 1,48 хвилин.

Приклад 13: (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-  
 25 метилпропан-1-ол і 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол



Суміш, що містить (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-  
 2-іл)-2-метилпропан-1-ол і 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол, одержують,  
 30 дотримуючись вище представленої процедури, виходячи з 2-(1-(трет-бутилдиметилсилілокси)-  
 2-метилпропан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індолу. (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-  
 6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол. HSI-MS m/z обчислено 366,2, знайдено 367,2  
 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,71 хвилин; 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол, ESI-  
 35 MS m/z обчислено 252,1, знайдено 253,4 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,42 хвилин.

Приклад 14: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-  
 (4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



5 Стадія а: (R)-3-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-13-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол

До розчину (R)-3-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу, що містить деяку кількість 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу (500 мг, 1,3 ммоль), в етанолі (10 мл) додають форміат амонію (500 мг, 7,9 ммоль) і Pd/C (10 %, 139 мг, 0,13 ммоль). Суміш кип'яють зі зворотним холодильником протягом 5 хв. Pd-катализатор видаляють фільтрацією через целіт і промивають етанолом. Фільтрат упарюють досуха і очищують колонковою хроматографією (суміш 30-50 % етилацетату-гексани), одержуючи (R)-3-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол (220 мг, 48 %, містить деяку кількість 3-(5-аміно-6-фтор-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу). ESI-MS  $m/z$  обчислено 350,2, знайдено 351,4 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 0,94 хвилин.

Стадія b: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-13-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

До суміші 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти (183 мг, 0,75 ммоль), (R)-3-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу, що містить деяку кількість 3-(5-аміно-6-фтор-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-олу (220 мг, 0,63 ммоль), і HATU (287 мг, 0,75 ммоль) в ДМФА (3,0 мл) додають триетиламін (0,21 мл, 1,5 ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі і потім розподіляють між етилацетатом і водою. Водний шар екстрагують етилацетатом і об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином солі і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Після видалення розчинника залишок очищують колонковою хроматографією (суміш 20-40 % етилацетату-гексани), одержуючи (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід (315 мг, 87 %, містить деяку кількість 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксаміду). ESI-MS  $m/z$  обчислено 574,2 знайдено 575,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,08 хвилин.

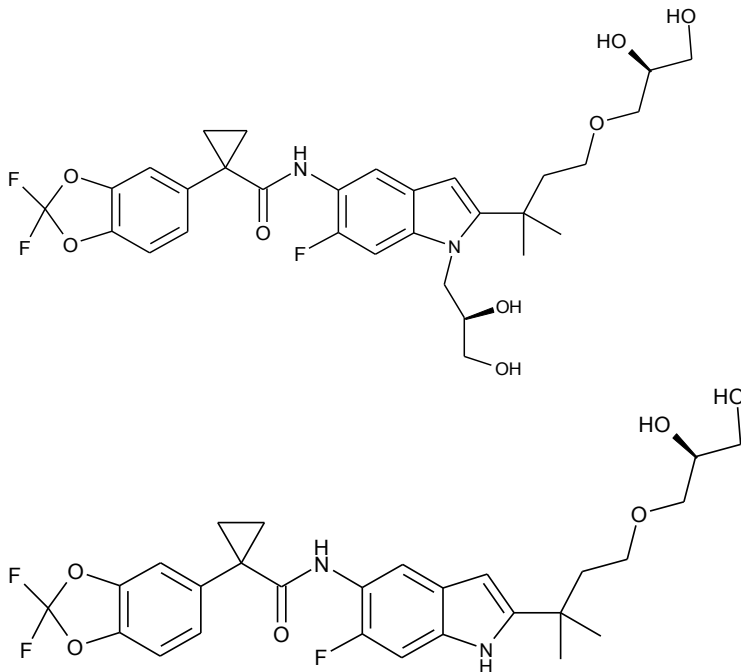
Стадія c: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

До розчину (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксаміду, що містить деяку кількість 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксаміду (315 мг, 0,55 ммоль), в метанолі (3 мл) і воді (0,3 мл) додають *n*-TsOH·H<sub>2</sub>O (21 мг, 0,11 ммоль). Суміш нагрівають при 80 °C протягом 30 хвилин. Реакційну суміш розподіляють між етилацетатом і водою і водний шар екстрагують етилацетатом двічі. Об'єднані органічні шари промивають насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> і насиченим розчином солі і сушать над MgSO<sub>4</sub>. Після видалення розчинника залишок очищують колонковою хроматографією (суміш 20-80 % етилацетату - гексани), одержуючи (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(4-гідрокси-2-метилбутан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід (92 мг, 31 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 534,2, знайдено 535,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,72 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,32 (с, 1H), 7,53 (д, J=1,0 Гц, 1H), 7,43-7,31 (м, 4H), 6,17 (с, 1H), 4,97-4,92 (м, 2H), 4,41 (дд, J=2,4, 15,0 Гц, 1H), 4,23 (г, J=5,0 Гц, 1H), 4,08 (дд, J=8,6, 15,1 Гц,

1H), 3,87 (с, 1H), 3,48-3,44 (м, 1H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,20 (дд, J=7,4, 12,7 Гц, 2H), 1,94-1,90 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,42 (с, 3H), 1,41 (с, 3H), 1,15-1,12 (м, 2H) ррт.

Приклад 15: 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-((S)-2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-((R)-2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід і (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-(2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



10

1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-((S)-2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-((R)-2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід і (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-(2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід, 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-((S)-2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-((R)-2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід і (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-((S)-2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід одержують, дотримуючись схеми, аналогічної вище представлений, виходячи з 2-(4-((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-(((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індолу, що містить деяку кількість (R)-2-(4-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-5-нітро-1H-індолу). 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-((S)-2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-1-((R)-2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід, ESI-MS m/z обчислено 608,2, знайдено 609,5 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,67 хвилин.

25

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,32 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,43-7,31 (м, 4H), 6,19 (с, 1H), 4,95-4,93 (м, 2H), 4,51 (д, J=5,0 Гц, 1H), 4,42-4,39 (м, 2H), 4,10-4,04 (м, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,49-3,43 (м, 2H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,30-3,10 (м, 6H), 2,02-1,97 (м, 2H), 1,48-1,42 (м, 8H) і 1,13 (дд, J=4,0, 6,7 Гц, 2H) ррт;

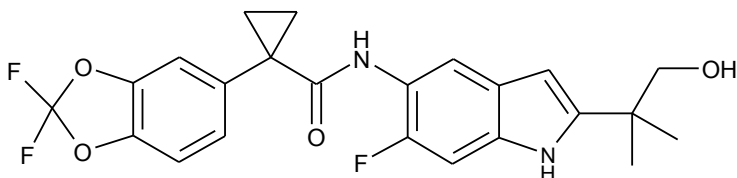
30

(S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-(4-(2,3-дигідроксипропокси)-2-метилбутан-2-іл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід, ESI-MS m/z обчислено 534,2, знайдено 535,5 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,81 хвилини.

35

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,91 (д, J=1,5 Гц, 1H), 8,30 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,33 (м, 3H), 7,03 (д, J=10,9 Гц, 1H), 6,07 (д, J=1,6 Гц, 1H), 4,56 (д, J=5,0 Гц, 1H), 4,43 (т, J=5,7 Гц, 1H), 3,51-3,46 (м, 1H), 3,31-3,13 (м, 6H), 1,88 (т, J=7,3 Гц, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,31 (с, 6H) і 1,15-1,12 (м, 2H) ррт.

Приклад 16: 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

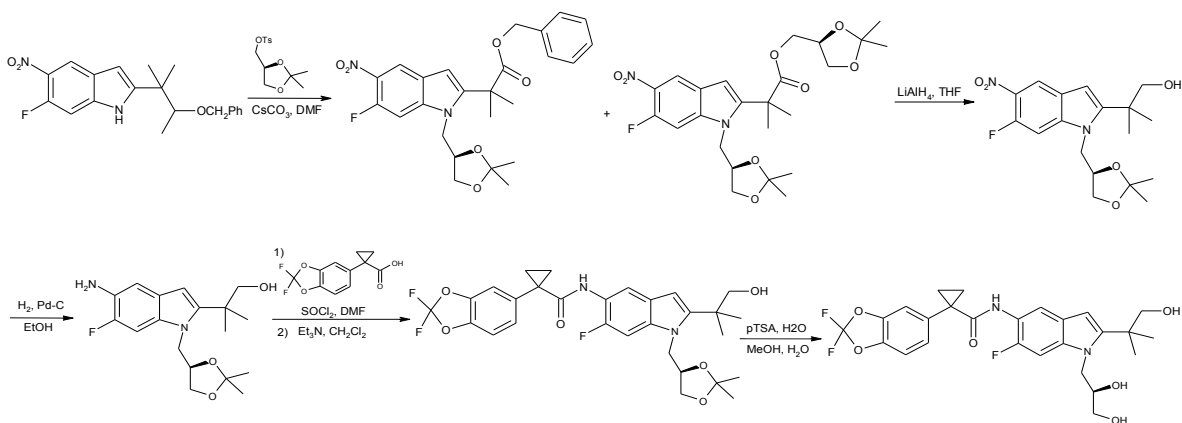


1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід одержують, дотримуючись схеми, аналогічної вищевказаній, виходячи з суміші, що містить (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол і 3-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-3-метилбутан-1-ол. ESI-MS m/z обчислено 446,2, знайдено 447,5 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,88 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,68 (с, 1H), 8,20 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,30-7,21 (м, 3H), 7,12 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,94 (д, J=11,2 Гц, 1H), 6,18 (с, 1H), 3,64 (с, 2H), 1,75 (дд, J=3,8, 6,8 Гц, 2H), 1,34 (с, 6H) і 1,14 (дд, J=3,9, 6,9 Гц, 2H) ppm.

Приклад 17: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



Стадія а: (R)-бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат і (S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 2-(1-((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат

Карбонат цезію (8,23 г, 25,3 ммоль) додають до суміші бензил-2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноату (3,0 г, 8,4 ммоль) і (S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 4-метилбензолсульфонату (7,23 г, 25,3 ммоль) в ДМФА (17 мл). Реакційну суміш перемішують при 80 °C протягом 46 годин в атмосфері азоту. Потім суміш розподіляють між етилацетатом і водою. Водний шар екстрагують етилацетатом. Об'єднані етилацетатні шари промивають насиченим розчином солі, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують. Неочищений продукт, в'язке коричневе масло, яке містить обидва з продуктів, представлених вище, використовують безпосередньо на наступній стадії без додаткового очищення. (R)-бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат, ESI-MS m/z обчислено 470,2, знайдено 471,5 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 2,20 хвилин. ((S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 2-(1-((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат, ESI-MS m/z обчислено 494,5, знайдено 495,7 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 2,01 хвилин.

Стадія b: (R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол

Неочищену реакційну суміш, одержану на стадії (а), розчиняють в ТГФ (42 мл) і охолоджують на бані зі сумішшю лід-вода. По краплях додають LiAlH<sub>4</sub> (16,8 мл 1М розчини, 16,8 ммоль). Після завершення додавання реакційну суміш перемішують протягом додаткових 5 хвилин. Реакцію гасять додаванням води (1 мл), 15 % розчину NaOH (1 мл) і потім води (3 мл). Суміш фільтрують через целіт і тверду речовину промивають ТГФ і етилацетатом. Фільтрат концентрують і очищують колонковою хроматографією (суміш 30-60 % етилацетату - гексани),

одержуючи продукт у вигляді коричневого масла (2,68 г, 87 % за 2 стадії). ESI-MS  $m/z$  обчислено 366,4, знайдено 367,3 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,68 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  8,34 (д,  $J=7,6$  Гц, 1H), 7,65 (д,  $J=13,4$  Гц, 1H), 6,57 (с, 1H), 4,94 (т,  $J=5,4$  Гц, 1H), 4,64-4,60 (м, 1H), 4,52-4,42 (м, 2H), 4,16-4,14 (м, 1H), 3,76-3,74 (м, 1H), 3,63-3,53 (м, 2H), 1,42 (с, 3H), 1,38-1,36 (м, 6H) і 1,19 (с, 3H) ppm.

Стадія с: (R)-2-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол

(R)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол (2,5 г, 6,82 ммоль) розчиняють в етанолі (70 мл) і реакційну суміш продувають  $N_2$ . Потім додають Pd-C (250 мг, 5 % мас.). Реакційну суміш знов продувають азотом і потім перемішують в атмосфері  $H_2$  (атм). Після 2,5 години, згідно з РХ-МС, спостерігають лише часткове перетворення на продукт. Реакційну суміш фільтрують через целіт і концентрують. Залишок знов піддають впливу вищевказаних умов. Через 2 години РХ-МС вказує на повне перетворення на продукт. Реакційну суміш фільтрують через целіт. Фільтрат концентрують, одержуючи продукт у вигляді чорної твердої речовини (1,82 г, 79 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 336,2, знайдено 337,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 0,86 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  7,17 (д,  $J=12,6$  Гц, 1H), 6,76 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 6,03 (с, 1H), 4,79-4,76 (м, 1H), 4,46 (с, 2H), 4,37-4,31 (м, 3H), 4,06 (дд,  $J=6,1, 8,3$  Гц, 1H), 3,70-3,67 (м, 1H), 3,55-3,52 (м, 2H), 1,41 (с, 3H), 1,32 (с, 6H) і 1,21 (с, 3H) ppm.

Стадія d: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

ДМФА (3 краплі) додають до перемішуваної суміші 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти (1,87 г, 7,7 ммоль) і тіонілхлориду (1,30 мл, 17,9 ммоль). Через 1 годину утворюється прозорий розчин. Розчин концентрують у вакуумі і знов концентрують і потім додають толуол (3 мл) і суміш знов концентрують. Стадію з толуолом повторюють ще раз і залишок піддають впливу високого вакууму протягом 10 хвилини. Потім хлорангідрид кислоти розчиняють в дихлорметані (10 мл) і додають до суміші (R)-2-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-олу (1,8 г, 5,4 ммоль) і триетиламіну (2,24 мл, 16,1 ммоль) в дихлорметані (45 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години. Реакційну суміш промивають 1N розчином HCl, насиченим розчином  $NaHCO_3$  і насиченим розчином солі, сушать над  $MgSO_4$  і концентрують, одержуючи продукт у вигляді чорної пінистої твердої речовини (3 г, 100 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 560,6, знайдено 561,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,05 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,40 (м, 2H), 7,34-7,30 (м, 3H), 6,24 (с, 1H), 4,51-4,48 (м, 1H), 4,39-4,34 (м, 2H), 4,08 (дд,  $J=6,0, 8,3$  Гц, 1H), 3,69 (т,  $J=7,6$  Гц, 1H), 3,58-3,51 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,39 (с, 3H), 1,34-1,33 (м, 6H), 1,18 (с, 3H) і 1,14-1,12 (м, 2H) ppm.

Стадія e: (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

(R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід (3,0 г, 5,4 ммоль) розчиняють в метанолі (52 мл).

Додають воду (5,2 мл), а потім n-TsOH· $H_2O$  (204 мг, 1,1 ммоль). Реакційну суміш нагрівають при 80 °C протягом 45 хвилини. Розчин концентрують і потім розподіляють між етилацетатом і насиченим розчином  $NaHCO_3$ . Етилацетатний шар сушать над  $MgSO_4$  і концентрують. Залишок очищують колонковою хроматографією (суміш 50-100 % етилацетату - гексани), одержуючи продукт у вигляді пінистої твердої речовини, забарвленої в кремовий колір. (1,3 г, 47 %, ee >98 % згідно SFC [надкритична флюїдна хроматографія]). ESI-MS  $m/z$  обчислено 520,5, знайдено 521,7 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,69 хвилини.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,38 (м, 2H), 7,33-7,30 (м, 2H), 6,22 (с, 1H), 5,01 (д,  $J=5,2$  Гц, 1H), 4,90 (т,  $J=5,5$  Гц, 1H), 4,75 (т,  $J=5,8$  Гц, 1H), 4,40 (дд,  $J=2,6, 15,1$  Гц, 1H), 4,10 (дд,  $J=8,7, 15,1$  Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,65-3,54 (м, 2H), 3,48-3,33 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,35 (с, 3H), 1,32 (с, 3H) і 1,14-1,11 (м, 2H) ppm.

Приклад 18: (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

Стадія a: (S)-бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат і (R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил-2-(1-((S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат

Карбонат цезію (2,74 г, 8,4 ммоль) додають до суміші бензил-2-(6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноату (1,0 г, 2,8 ммоль) і (S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 4-

метилбензолсульфонату (3,21 г, 11,2 ммоль) в ДМФА (5,6 мл). Реакційну суміш перемішують при 80 °C протягом 64 годин в атмосфері азоту. Потім суміш розподіляють між етилацетатом і водою. Водний шар екстрагують етилацетатом. Об'єднані етилацетатні шари промивають насиченим розчином солі, сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і концентрують. Неочищений продукт, в'язке коричневе масло, яке містить обидва з продуктів, представлених вище, використовують безпосередньо на наступній стадії без додаткового очищення. (S)-бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат, ESI-MS  $m/z$  обчислено 470,2, знайдено 471,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,22 хвилин. ((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил 2-(1-((S-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноат, ESI-MS  $m/z$  обчислено 494,5, знайдено 495,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,03 хвилин.

Стадія b: (S)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол

Суміш неочищеної реакційної суміші (S)-бензил-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноату і (R-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил-2-(1-((S-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропаноату розчиняють в ТГФ (15 мл) і охолоджують на бані зі сумішшю лід-вода. По краплях додають  $\text{LiAlH}_4$  (2,8 мл 1M розчини, 2,8 ммоль). Після завершення додавання, реакційну суміш перемішують протягом 5 хвилин. Реакцію гасять додаванням води (0,5 мл), 15 % розчину  $\text{NaOH}$  (0,5 мл) і потім води (1,5 мл). Суміш фільтрують через цеоліт і тверду речовину промивають ТГФ і етилацетатом. Фільтрат концентрують і очищують колонковою хроматографією (суміш 30-60 % етилацетату - гексани), одержуючи продукт у вигляді коричневого масла (505 мг, 49 % за 2 стадії). ESI-MS  $m/z$  обчислено 366,4, знайдено 367,3 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 1,68 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,34 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,65 (д, J=13,5 Гц, 1H), 6,57 (с, 1H), 4,94 (т, J=5,4 Гц, 1H), 4,64-4,60 (м, 1H), 4,52-4,42 (м, 2H), 4,14 (дд, J=6,2, 8,4 Гц, 1H), 3,74 (дд, J=7,0, 8,3 Гц, 1H), 3,63-3,53 (м, 2H), 1,42 (с, 3H), 1,37 (м, 6H) і 1,19 (с, 3H) ppm.

Стадія c: (S)-2-(5-Аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол

(S)-2-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-5-нітро-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-ол (500 мг, 1,4 ммоль) розчиняють в етанолі (15 мл) і реакційну суміш продувають  $\text{N}_2$ . Потім додають Pd-C (50 мг, 5 % мас.). Реакційну суміш продувають знов азотом і потім перемішують в атмосфері  $\text{H}_2$  (атм.). Через 1 годину згідно РХ-МС спостерігають тільки часткове перетворення на продукт. Реакційну суміш фільтрують через целіт і концентрують. Залишок знову піддають впливу умов, згаданих вище. Через 1 годину РХ-МС вказує на повне перетворення на продукт. Реакційну суміш фільтрують через целіт. Фільтрат концентрують, одержуючи продукт у вигляді чорної твердої речовини (420 мг, 91 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 336,2, знайдено 337,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 0,90 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  7,17 (д, J=12,6 Гц, 1H), 6,76 (д, J=9,0 Гц, 1H), 6,03 (с, 1H), 4,78 (ушир.с, 1H), 4,46 (с, 2H), 4,41-4,27 (м, 3H), 4,06 (дд, J=6,1, 8,3 Гц, 1H), 3,70-3,67 (м, 1H), 3,53 (дд, J=10,7, 17,2 Гц, 2H), 1,40 (с, 3H), 1,32 (с, 6H) і 1,21 (с, 3H) ppm.

Стадія d: (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

ДМФА (3 краплі) додають до перемішуваної суміші 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти (187 мг, 0,8 ммоль) і тіонілхлориду (0,13 мл, 1,8 ммоль). Через 30 хвилин утворюється прозорий розчин. Невелику кількість змішують з піперидином з метою перевірки того, чи сталося утворення хлорангідриду кислоти. Розчин концентрують на роторному випарнику і потім додають толуол (1 мл) і суміш концентрують знову. Стадію з толуолом повторюють ще раз і залишок піддають обробці у високому вакуумі протягом 10 хвилин. Потім хлорангідрид кислоти розчиняють в дихлорметані (2 мл і додають до суміші (S)-2-(5-аміно-1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-1H-індол-2-іл)-2-метилпропан-1-олу (200 мг, 0,6 ммоль) і триетиламіну (0,25 мл, 1,8 ммоль) в дихлорметані (4 мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 45 хвилин. Реакційну суміш промивають 1N розчином  $\text{HCl}$ , насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і насиченим розчином солі, сушать над  $\text{MgSO}_4$  і концентрують, одержуючи продукт у вигляді чорної пінистої твердої речовини (320 мг, 96 %). ESI-MS  $m/z$  обчислено 560,6, знайдено 561,5 ( $M+1$ )<sup>+</sup>. Час утримування 2,05 хвилин.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,42-7,40 (м, 2H), 7,34-7,30 (м, 3H), 6,24 (с, 1H), 4,84 (т, J=5,5 Гц, 1H), 4,51-4,46 (м, 1H), 4,41-4,32 (м, 2H), 4,08 (дд, J=6,0, 8,3 Гц, 1H), 3,71-3,67 (м, 1H), 3,58-3,50 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,40 (с, 3H), 1,34-1,33 (м, 6H), 1,18 (с, 3H) і 1,14-1,12 (м, 2H) ppm.

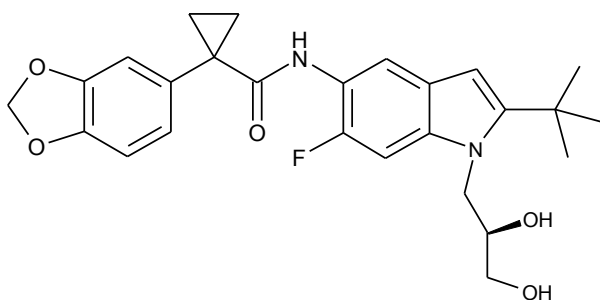


Стадія е: (S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід

(S)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метил)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід (290 г, 0,5 ммоль) розчиняють в метанолі (5 мл). Додають воду (0,5 мл), а потім п-TsOH·H<sub>2</sub>O (20 мг, 0,1 ммоль). Реакційну суміш нагрівають при 80 °C протягом 45 хвилин. Потім розчин розподіляють між етилацетатом і насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub>. Етилацетатний шар сушать над MgSO<sub>4</sub> і концентрують. Залишок очищують колонковою хроматографією (50-100 % етилацетату - гексани), одержуючи продукт у вигляді пінистої твердої речовини, забарвленої в кремовий колір. (146 мг, 54 %, ee >97 % згідно SFC). ESI-MS m/z обчислено 520,5, знайдено 521,5 (M+1)<sup>+</sup>. Час утримування 1,67 хвилин.

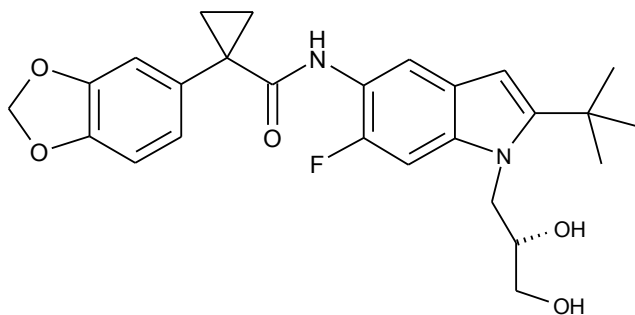
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,31 (с, 1H), 7,53 (д, J=1,1 Гц, 1H), 7,42-7,37 (м, 2H), 7,33-7,30 (м, 2H), 6,22 (с, 1H), 5,01 (д, J=5,0 Гц, 1H), 4,91 (т, J=5,5 Гц, 1H), 4,75 (т, J=5,8 Гц, 1H), 4,42-4,38 (м, 1H), 4,10 (дд, J=8,8, 15,1 Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,64-3,54 (м, 2H), 3,48-3,33 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,35 (с, 3H), 1,32 (с, 3H) і 1,14-1,11 (м, 2H) ppm.

Приклад 19: (R)-1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-трет-бутил-1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



(R)-1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-трет-бутил-1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід одержують, використовуючи експериментальну методику, аналогічну прикладу 72, з 1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти і 2-трет-бутил-6-фтор-5-нітро-1H-індолу.

Приклад 20: (S)-1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-трет-бутил-1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід



(S)-1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(2-трет-бутил-1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамід одержують, використовуючи експериментальну методику, аналогічну прикладу 72, з 1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти і 2-трет-бутил-6-фтор-5-нітро-1H-індолу.

Фахівець середньої кваліфікації в хімічних галузях може використовувати приклади і схеми нарівні з відомими синтетичними методологіями для синтезу сполук за даним винаходом, включаючи сполуки, представлені нижче в Таблиці 3.

Таблиця 3

Фізичні дані типових сполук

Сполука, №	РХ/МС, М+1	РХ/Час утримування, хв	ЯМР
308	516,7	1,69	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ 8,32 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,43-7,31 (м, 4H), 6,19 (с, 1H), 4,95-4,93 (м, 2H), 4,51 (д, J=5,0 Гц, 1H), 4,42-4,39 (м, 2H), 4,10-4,04 (м, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,49-3,43 (м, 2H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,30-3,10 (м, 6H), 2,02-1,97 (м, 2H), 1,48-1,42 (м, 8H) і 1,13 (дд, J=4,0, 6,7 Гц, 2H) ppm.
309	535,7	1,79	<sup>1</sup> H ЯМР (400,0 МГц, ДМСО) δ 8,43 (с, 1H), 7,53 (с, 1H), 7,45-7,41 (м, 2H), 7,36-7,31 (м, 2H), 6,27 (с, 1H), 4,74-4,70 (м, 2H), 3,57-3,53 (м, 2H), 3,29 (с, 9H), 1,48-1,42 (м, 11H), і 1,15 (дд, J=3,9, 6,8 Гц, 2H) ppm
310	609,5	1,64	
311	535,7	1,7	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ 8,32 (с, 1H), 7,53 (д, J=1,0 Гц, 1H), 7,43-7,31 (м, 4H), 6,17 (с, 1H), 4,97-4,92 (м, 2H), 4,41 (дд, J=2,4, 15,0 Гц, 1H), 4,23 (т, J=5,0 Гц, 1H), 4,08 (дд, J=8,6, 15,1 Гц, 1H), 3,87 (с, 1H), 3,48-3,44 (м, 1H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,20 (дд, J=7,4, 12,7 Гц, 2H), 1,94-1,90 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,42 (с, 3H), 1,41 (с, 3H) і 1,15-1,12 (м, 2H) ppm.
312	443	2,31	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d <sub>6</sub> ) δ 8,93 (с, 1H), 7,71 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,42 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,33 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,08 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,28 (с, 1H), 5,05 (т, J=5,6 Гц, 1H), 4,42 (т, J=6,8 Гц, 2H), 3,70-3,65 (м, 2H), 1,51-1,48 (м, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,19-1,16 (м, 2H) ppm.
313	521,5	1,69	<sup>1</sup> H ЯМР (400,0 МГц, CD <sub>3</sub> CN) δ 7,69 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,44 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,39 (дд, J=1,7, 8,3 Гц, 1H), 7,31 (с, 1H), 7,27 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,20 (д, J=12,0 Гц, 1H), 6,34 (с, 1H), 4,32 (д, J=6,8 Гц, 2H), 4,15-4,09 (м, 1H), 3,89 (дд, J=6,0, 11,5 Гц, 1H), 3,63-3,52 (м, 3H), 3,42 (д, J=4,6 Гц, 1H), 3,21 (дд, J=6,2, 7,2 Гц, 1H), 3,04 (т, J=5,8 Гц, 1H), 1,59 (дд, J=3,8, 6,8 Гц, 2H), 1,44 (с, 3H), 1,33 (с, 3H) і 1,18 (дд, J=3,7, 6,8 Гц, 2H) ppm.
315	482,5	1,99	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО) 8,93 (с, 1H), 7,71 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,42 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,33 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,08 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,28 (с, 1H), 5,05 (т, J=5,6 Гц, 1H), 4,42 (т, J=6,8 Гц, 2H), 3,70-3,65 (м, 2H), 1,51-1,48 (м, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,19-1,16 (м, 2H)
316	438,7	2,1	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО) 11,48 (с, 1H), 8,88 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,41 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,32 (дд, J=1,5, 8,3 Гц, 1H), 7,03 (д, J=8,6 Гц, 1H), 6,21 (д, J=1,8 Гц, 1H), 1,51-1,49 (м, 2H), 1,36 (с, 9H), 1,18-1,16 (м, 2H) ppm.
318	469,01 6	1,66	
320	465,7	1,79	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, ДМСО) 9,26 (с, 1H), 7,65 (д, J=1,9 Гц, 1H), 7,49 (д, J=8,7 Гц, 2H), 7,36 (д, J=8,9 Гц, 1H), 7,11 (дд, J=1,9, 8,9 Гц, 1H), 6,89 (д, J=8,8 Гц, 2H), 6,14 (с, 1H), 4,42-4,37 (м, 1H), 4,16-4,10 (м, 1H), 3,90-3,88 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,46-3,42 (м, 2H), 1,41 (с, 9H), 1,36 (д, J=5,0 Гц, 1H), 1,21 (с, 3H), 0,99 (д, J=5,0 Гц, 1H), 0,84 (с, 3H).
322	521,5	1,67	<sup>1</sup> H ЯМР (400,0 МГц, ДМСО) δ 8,31 (с, 1H), 7,53 (д, J=1,1 Гц, 1H), 7,42-7,37 (м, 2H), 7,33-7,30 (м, 2H), 6,22 (с, 1H), 5,01 (д, J=5,0 Гц, 1H), 4,91 (т, J=5,5 Гц, 1H), 4,75 (т, J=5,8 Гц, 1H), 4,42-4,38 (м, 1H), 4,10 (дд, J=8,8, 15,1 Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,64-3,54 (м, 2H), 3,48-3,33 (м, 2H), 1,48-1,45 (м, 2H), 1,35 (с, 3H), 1,32 (с, 3H) і 1,14-1,11 (м, 2H) ppm.

Приклад 21: Випробування з метою виявлення і вимірювання коригувальних властивостей сполук, що заявляються, у відношенні  $\Delta F508\text{-CFTR}$

Оптичні методи вимірювання мембранного потенціалу для оцінки модулюючих властивостей сполук у відношенні  $\Delta F508\text{-CFTR}$ .

Аналіз використовує чутливі до напруги флуоресцентні барвники для вимірювання змін в (транс)мембранному потенціалі, використовуючи планшет-рідер з детектування з допомогою флуоресцентної мітки (наприклад, FLIPR HI, Molecular Devices, Inc.) як пристрій індикації збільшення функціональності  $\Delta F508\text{-CFTR}$  в клітинах NIH 13T3. Рушійною силою реакцію у відповідь виступає створення градієнта хлоридного іона в зв'язку з активацією каналу за допомогою стадії додавання однієї рідини, після того як клітини заздалегідь були піддані обробці сполуками і потім навантажені барвником, чутливим до напруги.

Ідентифікація коригувальних сполук

Для ідентифікації невеликих молекул, які коректують дефект в направленій міграції, пов'язаний з  $\Delta F508\text{-CFTR}$ ; був розроблений формат аналізу HTS з одним додаванням. Аналітичні планшети, що містять клітини, інкубують протягом ~2-4 годин в інкубаторі тканинної культури при 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , вологість 90 %. Після адгезії клітин до дна ямок аналітичних планшетів, клітини готові для впливу на них сполуки.

Клітини інкубують в безсироватковому середовищі протягом 16-24 годин в культуральному інкубаторі при 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , вологість 90 % в присутності або за відсутності (негативний контроль) випробуваної сполуки. Потім клітини промивають 3× розчином Кребса-Рінгера і навантажують барвником, що перерозподіляється, чутливим до напруги. Для активації  $\Delta F508\text{-CFTR}$  в кожну ямку додають 10 мкМ форсколіну і засіб, що потенціює CFTR, геністеїн (20 мкМ), поряд із середовищем, що не містить  $\text{Cl}^-$ . Додавання середовища, що не містить  $\text{Cl}^-$ , стимулює стік  $\text{Cl}^-$  у відповідь на активацію  $\Delta F508\text{-CFTR}$ , і одержану деполяризацію мембрани контролюють оптичним методом, використовуючи барвники, чутливі до напруги.

Ідентифікація потенціюючих сполук

Для ідентифікації засобів, потенціюючих  $\Delta F508\text{-CFTR}$ , був розроблений формат аналізу HTS з подвійним додаванням. Цей HTS аналіз використовує флуоресцентні барвники, чутливі до напруги, для вимірювання змін в мембранному потенціалі на FLIPR III як пристрій індикації збільшення струмування (провідність) в  $\Delta F508\text{-CFTR}$  в температурно-скоректованих  $\Delta F508\text{-CFTR}$  клітин NIH3T3. Рушійною силою для реакції у відповідь є виникнення градієнта іона  $\text{Cl}^-$  в зв'язку з активацією каналу форсколіном на стадії додавання однієї рідини, використовуючи планшет-рідер з детектування за флуоресцентною міткою, такою як FLIPR III, після того, як клітини заздалегідь були піддані обробці потенціюючими сполуками (або контроль з обробкою ДМСО-наповнювачем) і потім навантажені барвником, що перерозподіляється.

Розчини:

Провідний розчин #1: (в мМ) NaCl 160, KCl 4,5,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  1, HEPES 10, pH 7,4, доведений за допомогою NaOH.

Провідний розчин, що не містить хлору: Хлоридні солі в провідному розчині #1 заміщені глюконатними солями.

Клітинна культура

Фібробласти миші лінії NIH3T3, що стабільно експресують  $\Delta F508\text{-CFTR}$ , використовують для оптичних вимірювань мембранного потенціалу. Клітини витримують при 37 °C в 5 %  $\text{CO}_2$  і вологості 90 % в модифікованому за способом Дюльбекко середовищі Ігла, доповненому 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 × NEA A,  $\beta$ -ME, 1 × пеніцилін/стрептоміцин і 25 мМ HEPES в 175 см<sup>2</sup> культуральних флаконах. У випадку всіх аналізів оптичним методом клітини висівають при густини ~20000/ямку в 384-ямкових покритих матригелем планшетах і культивують протягом 2 годин при 37 °C до культивування їх при 27 °C протягом 24 годин для аналізу на виявлення потенціювальної дії. У випадку аналізу на виявлення коригувальної дії клітини культивують при 27 °C або 37 °C з або без сполук протягом 16-24 годин.

Електрофізіологічні методи аналізу для оцінки моделюючих властивостей сполук у відношенні  $\Delta F508\text{-CFTR}$

1. Аналіз в камері Уссінга

Експерименти в камері Уссінга проводять на поляризованих епітеліальних клітинах дихальних шляхів, що експресують  $\Delta F508\text{-CFTR}$  для одержання додаткових характеристик модуляторів  $\Delta F508\text{-CFTR}$ , ідентифікованих в аналізах оптичним методом. Епітелії дихальних шляхів, неуразених або уражених CF, ізолюють з бронхіальної тканини, культивують, як описано раніше (Galietta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, Про., Romano, L., Rossi, G.A., & Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481), і поміщують на Costar® Snapwell™ фільтрах, які заздалегідь покривають MN3T3-кондиціонованим середовищем. Через чотири дні

апикальне середовище видаляють і клітини вирощують на поверхні розділення повітря-рідини протягом >14 днів до використання. Це призводить до утворення моношару повністю диференційованих циліндричних клітин, які є вільними, властивості яких характерні для епітелію дихальних шляхів. Не уражені CF HBE ізолюють у некурящих, які не мають ніякого відомого захворювання легень. CF-HBE ізолюють у пацієнтів, гомозиготних відносно  $\Delta F508$ -CFTR.

HBE, вирощені на вставках клітинної культури Costar® Snapwell™, монтують в камері Уссінга (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), і вимірюють трансепітеліальний опір і струм короткого замикання в присутності градієнта  $Cl^-$  ( $I_{sc}$ ), від базолатерального до апікального, використовуючи систему фіксації потенціалу (Department of Bioengineering, University of Iowa, IA). Коротко, HBE досліджують в умовах записування в режимі фіксації потенціалу ( $V_{hold}=0$  мВ) при 37 °C. Базолатеральний розчин містить (в мМ) 145 NaCl, 0,83  $K_2HPO_4$ , 3,3  $KH_2PO_4$ , 1,2  $MgCl_2$ , 1,2  $CaCl_2$ , 10 глюкози, 10 HEPES (pH, доведений до 7,35 за допомогою NaOH) і апікальний розчин містить (в мМ) 145 Na глюконату, 1,2  $MgCl_2$ , 1,2  $CaCl_2$ , 10 глюкози, 10 HEPES (pH доведений до 7,35 за допомогою NaOH).

#### Ідентифікація коригувальних сполук

Типовий протокол використовує градієнт концентрації  $Cl^-$ , від базолатеральної до апікальної мембрани. Для встановлення цього градієнта, нормальний розчин Рінгера використовують на базолатеральній мембрані, в той час як апікальний NaCl замінюють еквімолярним глюконатом натрію (титрованим до pH 7,4 за допомогою NaOH), одержуючи великий градієнт концентрації  $Cl^-$  через епітелій. Всі експерименти здійснюють з інтактними моношарами. Для повної активації  $\Delta F508$ -CFTR, форсколін (10 мкМ), інгібітор PDE, IBMX (100 мкМ) і засіб, що потенціює CFTR, геністеїн (50 мкМ) додають з апікальної сторони.

Як спостерігалось в інших типах клітин, інкубація при низьких температурах клітин FRT і людських бронхіальних епітеліальних клітин, ізолюваних у страждаючих CF пацієнтів (CF-HBE), що експресують  $\Delta F508$ -CFTR, збільшує функціональну щільність CFTR в плазматичній мембрані. Для визначення активності коригувальних сполук клітини інкубують з випробуваною сполукою протягом 24-48 годин при 37 °C і потім промивають 3х перед проведенням запису. цАМФ- і геністеїн-опосередкований  $I_{sc}$  в клітинах, оброблених сполукою, нормалізують до 37 °C контролів і виражають у вигляді процентної активності від активності CFTR в wt-HBE. Попередня інкубація з коригуючою сполукою значно збільшує цАМФ- і геністеїн-опосередкований  $I_{sc}$  в порівнянні з 37 °C контролями.

#### Ідентифікація потенціюючих сполук

Типовий протокол використовує градієнт концентрації  $Cl^-$ , від базолатеральної до апікальної мембрани. Для встановлення цього градієнта нормальний розчин Рінгера використовують на базолатеральній мембрані, в той час як апікальний NaCl замінюють еквімолярним глюконатом натрію (титрованим до pH 7,4 з допомогою NaOH), одержуючи великий градієнт концентрації  $Cl^-$  через епітелій. Форсколін (10 мкМ) і всі випробувані сполуки додають з апікальної сторони вставок клітинної культури. Ефективність передбачуваних потенціюючих  $\Delta F508$ -CFTR засобів порівнюють з ефективністю відомого потенціюючого засобу, геністеїном.

#### 2. Записи, що одержуються методом петч-кламп

Повний струм  $Cl^-$  в  $\Delta F508$ -NIH3T3 клітинах контролюють, використовуючи запис методом петч-кламп в конфігурації перфорованого петча, описаний раніше (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26). Записи методом петч-кламп в режимі фіксації потенціалу здійснюють при 22 °C, використовуючи петч-кламп підсилювач Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). 1 Піпетковий розчин містить (в мМ) 150 N-метил-D-глюкаміну (NMDG)-Cl, 2  $MgCl_2$   $CaCl_2$ , 10 EGTA, 10 HEPES, і 240 мкг/мл амфотерицину-B (pH, доведений до 7,35 з допомогою HCl). Позаклітинне середовище містить (в мМ) 150 NMDG-Cl, 2  $MgCl_2$ , 2  $CaCl_2$ , 10 HEPES (pH, доведений до pH 7,35 за допомогою HCl). Генерація імпульсів, збір даних і аналіз здійснюють, використовуючи персональний комп'ютер (PC), забезпечений інтерфейсом Digidata 1320 A/D в зв'язку з Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Для активації  $\Delta F508$ -CFTR, 10 мкМ форсколіну і 20 мкМ геністеїну додають у ванну і кожні 30 сек контролюють вольт-амперну характеристику.

#### Ідентифікація коригувальних сполук

Для визначення активності коригувальних сполук відносно збільшення густини функціонального  $\Delta F508$ -CFTR в плазматичній мембрані, заявники використовують вищеописану техніку запису в конфігурації перфорованого петча, вимірюючи щільність електричного струму після 24-годинної обробки коригуючими сполуками. Для повної активації  $\Delta F508$ -CFTR до клітин додають 10 мкМ форсколіну і 20 мкМ геністеїну. В умовах запису, що використовуються заявниками, щільність електричного струму після 24-годинної інкубації при 27 °C виявилася

вищою за щільність електричного струму, що спостерігається після 24-годинної інкубації при 37 °С. Ці результати відповідають відомим діям низькотемпературної інкубації на щільність  $\Delta F508$ -CFTR в плазматичній мембрані. Для визначення впливу коригувальних сполук на щільність струму CFTR клітини інкубують з 10 мкМ випробуваної сполуки протягом 24 годин при 37 °С і щільність струму, що одержується, порівнюють з 27 °С- і 37 °С-контроль (% активність). До проведення запису клітини промивають 3× позаклітинним реєструвальним середовищем для видалення будь-якої випробуваної сполуки, що залишилася. Попередня інкубація з 10 мкМ коригувальних сполук значно збільшує цАМФ- і геністеїн-залежний струм в порівнянні з 37 °С-контролями.

#### Ідентифікація потенціюючих сполук

Крім того, використовуючи техніки запису методом петч-кламп в конфігурації перфорованого петча, досліджують здатність засобів, потенціюючих  $\Delta F508$ -CFTR, збільшувати макроскопічний струм  $Cl^-$   $\Delta F508$ -CFTR ( $I_{\Delta F508}$ ) в клітинах NIH3T3, що стабільно експресують  $\Delta F508$ -CFTR. Потенціювальні засоби, ідентифіковані при аналізах оптичним методом, спричиняють дозозалежне збільшення  $I_{\Delta F508}$  з аналогічною активністю і ефективністю, що спостерігається в аналізах оптичним методом. У всіх клітинах, що досліджуються, зворотний потенціал до і під час застосування потенціюючого засобу складав близько -30 мВ, який представляє розрахований  $E_{Cl}$  (-28 мВ).

#### Клітинна культура

Фібробласти миші лінії NIH3T3, що стабільно експресують  $\Delta F508$ -CFTR, використовують для записів методом петч-кламп в конфігурації цільної клітини. Клітини витримують при 37 °С в 5 %  $CO_2$  і вологість 90 % в модифікованому за способом Дульбекко середовищі Ігла, доповненому 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 × NBAA, Р-МЕ, 1 × пеніцилін/стрептоміцин і 25 мМ HEPES в 175 см<sup>2</sup> культуральних флаконах. Для записів методом петч-кламп в конфігурації суцільної клітини 2500-5000 клітин висівають на покритому полі-L-лізином покривному склі і культивують протягом 24-48 годин при 27 °С до їх використання для випробування активності потенціюючих засобів; і інкубують з або без коригувальної сполуки при 37 °С для вимірювання активності коригувальних засобів.

#### 3. Записи одиночного каналу

Активність стробування wt-CFTR і температурно-скоректованого  $\Delta F508$ -CFTR, експресованого в клітинах NIH3T3, спостерігають, використовуючи записи, що одержуються методом петч-кламп в конфігурації inside-out [зовнішня сторона посіченого шматочка мембрани всередині піпетки], як описано раніше (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526-528), використовуючи Axopatch 200B петч-кламп підсилювач (Axon Instruments Inc.). Піпетка містить (в мМ): 150 NMDG, 150 аспарагінової кислоти, 5  $CaCl_2$ , 2  $MgCl_2$ , і 10 HEPES (pH, доведений до 7,35 за допомогою Трис-основи). Ванна містить (в мМ): 150 NMDG-Cl, 2  $MgCl_2$ , 5 EGTA, 10 TES, і 14 Трис-основи (pH, доведений до 7,35 за допомогою HCl). Після посічення як wt-, так і  $\Delta F508$ -CFTR активують, додаючи 1 мМ Mg-АТФ, 75 мМ каталітичної субодиниці цАМФ-залежної протеїнкінази (PKA; Promega Corp. Madison, WI) і 10 мМ NaF для інгібування протеїнфосфатаз, які запобігають зниженню струму. Потенціал піпетки підтримують при 80 мВ. Активність каналу аналізують з мембранних фрагментів-петчей, що містять  $\leq 2$  активних каналів. Максимальна кількість одночасних відкриттів визначає кількість активних каналів під час ходу експерименту. Для визначення амплітуди струму одиночного каналу, дані, записані зі 120 сек, активність  $\Delta F508$ -CFTR фільтрують в режимі "off-line" при 100 Гц і потім використовують для побудови растрових амплітудних гістограм, які приводять у відповідність з функціями мультигауссіана, використовуючи програмне забезпечення Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. France). Загальний мікроскопічний струм і ймовірність відкритого стану ( $P_0$ ) визначають, починаючи з 120 сек активність каналу.  $P_0$  визначають, використовуючи програму забезпечення Bio-Patch або з співвідношення  $P_0 = I/i(N)$ , де  $I$  = середній струм,  $i$  = амплітуда струму одиночного каналу, і  $N$  = кількість активних каналів в петчі [фрагменті мембрани].

#### Клітинна культура

Фібробласти миші NIH3T3, що стабільно експресують  $\Delta F508$ -CFTR, використовують для запису методом петч-кламп, основаному на ізолюванні спеціальною піпеткою фрагмента-петча клітинної мембрани. Клітини витримують при 37 °С в умовах 5 %  $CO_2$  і вологості 90 % в модифікованому за способом Дульбекко середовищі Ігла, доповненому 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 × NEAA, Р-МЕ, 1 × пеніцилін/стрептоміцин і 25 мМ HEPES в 175 см<sup>2</sup> культуральних флаконах. Для записів одиночного каналу 2500-5000 клітин висівають на покритому полі-L-лізином покривному склі і культивують протягом 24-48 годин при 27 °С перед використанням.

Сполуки за даним винаходом, як було виявлено, демонструють коригуючу активність, виміряну у випробуванні, описаному вище.

Сполуки за даним винаходом використовують як модулятори АТФ-зв'язувальних касетних транспортерів. Використовуючи методики, описані вище, активності, тобто  $EC_{50}$ , сполук за даним винаходом, як було виміряно, складають від близько 3,8 нМ до близько 13,5 мкМ. Крім того, використовуючи способи, описані вище, ефективність сполук за даним винаходом, як було визначено, складає від близько 35 % до близько 110 %.

У таблиці 4 використовують нижченаведені позначення:

$EC_{50}$ : "+++" означає <2 мкМ; "++" передбачає значення від 2 мкМ до 5 мкМ; "+" передбачає значення від 5 мкМ до 25 мкМ.

Ефективність в %: "+" означає <25 %; "++" передбачає значення між 25 % і 100 %; "+++" означає >100 %.

Таблиця 4

Сполука №	Бінінговане $EC_{50}$	Бінінгована максимальна ефективність
308	++	+++
309	+++	+++
310	+++	+++
311	+++	+++
312	+++	+++
313	+++	+++
315	+++	+++
316	+++	+++
318	+++	+++
320	++	++

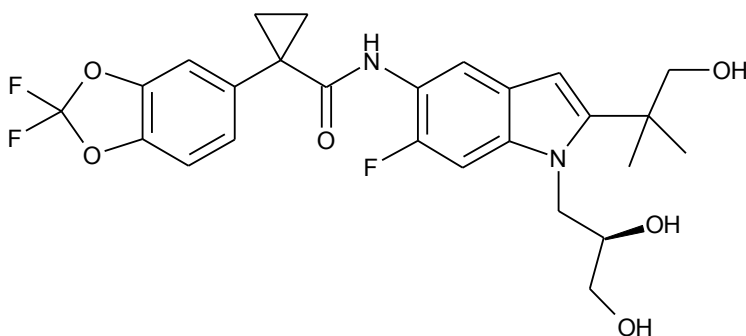
15 Інші варіанти здійснення винаходу

Потрібно розуміти, що незважаючи на описаний вище винахід в зв'язку з його докладним описом, вищевикладений опис, як розуміється, носить ілюстративний характер і ніяким чином не обмежує обсяг даного винаходу, який визначається обсягом нижченаведеної формули винаходу. Інші аспекти, переваги і модифікації даного винаходу не вийдуть за межі обсягу нижченаведеної формули винаходу.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Фармацевтична композиція, яка містить:

25 (i) сполуку формули

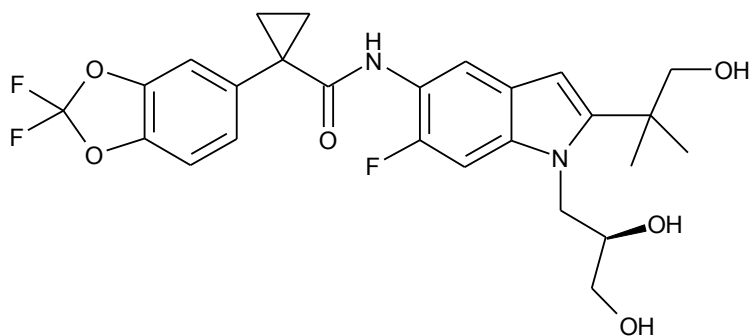


(ii) сполуку, яка являє собою: N-(5-гідрокси-2,4-ди-трет-бутилфеніл)-4-оксо-1H-хінолін-3-карбоксамід, і

(iii) фармацевтично прийнятний носій.

30 2. Фармацевтична композиція, призначена для лікування стану, захворювання або розладу у пацієнта, в патології якого задіяна активність ABC-транспортера, яка містить:

(i) сполуку формули



- (ii) сполуку, яка являє собою: N-(5-гідрокси-2,4-ди-трет-бутилфеніл)-4-оксо-1H-хінолін-3-карбоксамід, і  
(iii) фармацевтично прийнятний носій.

5

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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