



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108059** (13) **C2**
(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2010 03140**
(22) Дата подання заявки: **19.08.2008**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.03.2015**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **60/957,129, 61/047,187**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **21.08.2007, 23.04.2008**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US**
(41) Публікація відомостей про заявку: **25.06.2010, Бюл.№ 12**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.03.2015, Бюл.№ 6**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/US2008/009864, 19.08.2008**

(72) Винахідник(и):
**Лі Сяодун (US),
Петрон Ендрю (US),
Тачджиан Кетрін (US),
Сюй Хун (US),
Лі Цин (US),
Пронін Алєксєй (US),
Сервант Гай (US),
Чжан Лань (US),
Бреді Томас (US),
Дармохусодо Вінсент (US),
Ареллано Мелісса (US),
Селчау Віктор (US),
Чінг Бретт Вейлан (US),
Каранєвскій Доналд С. (US),
Браст Пол (US),
Лін Цзин (US),
Чжао Вень (US),
Пріст Чад (US)**

(73) Власник(и):
**СІНОМІКС, ІНК.,
4767 Nexus Centre Drive, San Diego, CA
92121, United States of America (US)**

(74) Представник:
**Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр.
№115**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
US 2007037212 (A1), 15.02.2007
US 2006263411 (A1), 23.11.2006
US 2002165235 (A1), 07.11.2002
US 2003229069 (A1), 11.12.2003
WO 9011695 (A1), 18.10.1990
CA 1000736 (A1), 30.11.1976
US 4029787 (A), 03.09.1957
US 3557111 (A), 19.01.1971
WO 0042003 (A1), 20.07.2000
US 2006122181 (A1), 08.06.2006
US 2006135773 (A1), 22.06.2006
WO 2006043839 (A1), 27.04.2006
WO 9634851 (A1), 07.11.1996
US 3954994 (A), 04.05.1976
HOLMES ET AL: "Discovery and structure-activity relationships of novel sulfonamides as potent PTP1B inhibitors", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 15, no. 19, 1 October 2005, pages 4336-4341
HARADA H, MATSUSHITA Y, YODO M, NAKAMURA M, YONETANI Y.: "Studies on uricosuric diuretics. I. 6,7-Dichloro-5-sulfamoyl-2,3-dihydrobenzofuran-2-carboxylic acids.", CHEM PHARM BULL, vol. 35, no. 8, 1987, pages 3195-3214
FRANCISCO CATURLA ET AL: "Synthesis and Biological Evaluation of 2-Phenylpyran-4-ones: A New Class of Orally Active Cyclooxygenase-2 Inhibitors", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 47, no. 15, 15 July 2004 (2004-07-15), pages 3874-3886

UA 108059 C2

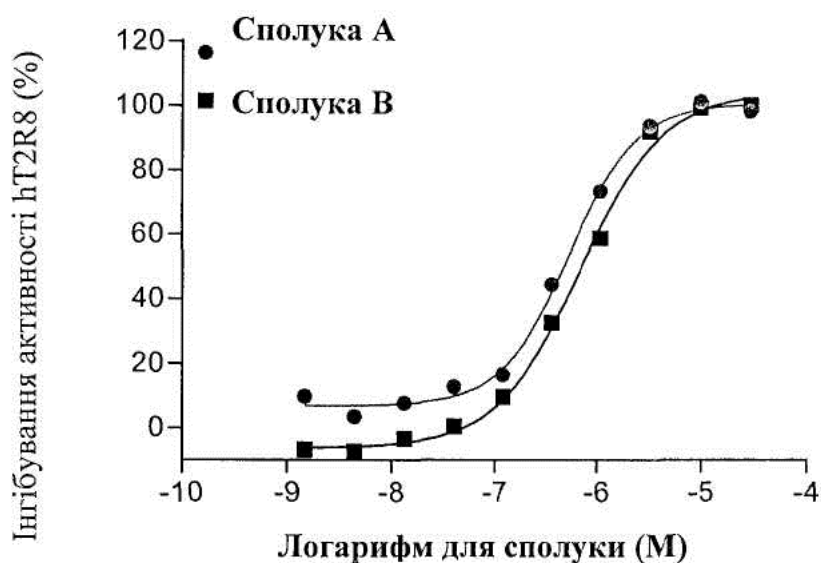
(54) ІДЕНТИФІКАЦІЯ РЕЦЕПТОРІВ T2R ЛЮДИНИ, ЯКІ ЗВ'ЯЗУЮТЬСЯ З ГІРКИМИ СПОЛУКАМИ, ЩО НАДАЮТЬ ГІРКИЙ СМАК КОМПОЗИЦІЯМ, ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ В ЗАСОБАХ АНАЛІЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СПОЛУК, ІНГІБУЮЧИХ (БЛОКУЮЧИХ) ГІРКИЙ СМАК У КОМПОЗИЦІЯХ, І ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується виявлення того, що деякі смакові рецептори людини в родині рецепторів T2R реагують на певні гіркі сполуки, наприклад, у каві.

Також, винахід стосується виявлення конкретних сполук і композицій, які містять сполуки, що діють як інгібітори гіркого смаку, і їх застосування як інгібіторів гіркого смаку або модуляторів смаку, наприклад, у каві й харчових продуктах, що мають кавовий смак, напоях і медикаментах. Також, даний винахід стосується виявлення сполуки, що є антагоністом різних T2R людини, та її застосування в способах аналізу, а також як інгібітору гіркого смаку в композиціях, призначених для прийому всередину людиною та тваринами.

Криві дозозалежного інгібування для сполуки А і В в стабільній клітинній лінії hT2R8



Фіг.3

Родинні заявки

[0001] Даною заявкою заявлений пріоритет відповідно до попередньої заявки США Сер. № 60/957,129, поданої 21 серпня, 2007 і попередньої заявки США Сер. №61/047,187, поданої 23 квітня 2008, і відноситься до заявки США № 11/766,974, що являє собою часткове продовження

заявки США Сер. № 11/555,617, поданої 1 листопада 2006, яка, у свою чергу, є частковим

продовженням заявки США Сер. № 10/191,058, поданої 10 липня, 2002, і також є частковим продовженням заявки США Сер. № 10/742,209, поданої 1 грудня, 2003, що є виділеною заявкою США Сер. № 09/825,882, поданою 5 квітня, 2001, у даний час – патент США № 7,105,650, всі зазначені заявки включені в даний текст у повному об'ємі за допомогою посилання.

Галузь техніки

[0002] Дана заявка відноситься до ідентифікації смакових рецепторів людини 2 типу (hT2R), та їх застосуванню в засобах аналізу для ідентифікації лігандів, що активують специфічні T2R. У наших попередніх заявках на патент, ми описували функціональну експресію рецепторів гірко

смаку у людини, включаючи hT2R8 й hT2R14. У даній заявці повідомляється, що hT2R8 й hT2R14 активуються фракцією кави, збагаченої гірким смаком. Також повідомляється про ідентифікацію антагоністів hT2R8 й hT2R14 з використанням високопродуктивного скринінгового аналізу, а також про те, що комбінації антагоністів можуть послабляти гіркий смак кави й фракцій кави. Згідно із даним винаходом, запропонований спосіб зміни та покращення смаку кавових напоїв.

[0003] Зокрема, згідно із даним винаходом, запропоноване застосування hT2R8 та/або hT2R14 у скринінговому аналізі та смакових пробах для ідентифікації сполук, інгібуючих

(блокуючих) гіркий смак кави й інших напоїв.

[0004] Також, даний винахід відноситься до виявлення ліганду, що має властивості антагоніста гірко

смаку широкого спектра дії, тобто, такого ліганду, що мав би здатність в значній мірі блокувати або інгібувати активацію великої кількості (13) рецепторів гірко

смаку, а також інгібувати гіркий смак, що викликається деякими гіркими сполуками, до яких на даний момент не виявлені рецептор(и) гірко

смаку. [0005] Зокрема, винахід відноситься до виявлення ліганду, зазначеного в даному описі як Сполука С, що має властивості антагоніста гірко

смаку широкого спектра дії, тобто, у значній мірі блокуючого або інгібуючого активацію hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65 й 71 рецепторів гірко

смаку, а також інгібуючого гіркий смак, що викликається деякими гіркими сполуками, до яких на даний момент не виявлені рецептор(и) гірко

смаку. [0006] Також, зокрема, згідно із даним винаходом виявлено, що така сполука-антагоніст послабляє гіркий смак саліцину, антагоніста hT2R16, і фенілтіосечовини, агоніста hT2R51.

[0007] Також, зокрема, згідно із даним винаходом, виявлене блокування зазначеною сполукою-антагоністом гірко

смаку, що викликається гіркими сполуками, які активують різні рецептори гірко

смаку (Lindemann, *Nature* (2001)). У даний час відомо, що багато гірких сполук викликають гіркий смак завдяки взаємодії з рецепторами клітинної поверхні. Ці рецептори належать до родини рецепторів, що складаються із семи трансмембранних доменів, які взаємодіють із внутрішньоклітинними G-білками. В організмі людини й гризунів було виділено нову родину GPCRs, названу T2R (Adler et al., *Cell* 100(6):693-702 (2000); Chandrashekar et al., *Cell* 100(6):703-711 (2000); Matsunami H, Montmayeur J P, Buck L B. *Nature* 404(6778): 601-4 (2000)). Відповідно щодо заявленого винаходу запропонований ряд доказів того, що T2R є медіаторами відповіді на гіркі сполуки. По-перше, гени T2R специфічним чином експресували в субпопуляції клітин смакового рецептора язика й епітелію піднебіння. По-друге, ген одного з T2R людини (hT2R1) розташований у локусі хромосоми, зв'язаному із чутливістю до гіркої сполуки циклогексими́ду в мишей. Також було показано, що mT2R5 можуть активувати густдучин, G-білок, який специфічним чином експресують смакові клітини, і пов'язаний з перетворенням гіркої збудника (Wong et al., *Nature* 381:796-800 (1996)). Активация густдучину mT2R5 відбувається тільки у відповідь на циклогексими́д (Chandrashekar et al., (Id.) (2000)). Таким чином, було зроблене припущення про те, що родина mT2R є медіаторами відповіді на гіркий смак у мишей, у той час як родина hT2R є медіаторами відповіді на гіркий смак у людини. Тільки в T2R була припущена наявність ідентифікованого гіркої ліганди. Було показано, що hT2R4 активується денатоніумом (Chandrashekar et al., (Id.) 2000). Хоча, ефективні концентрації денатоніума, застосовувані в дослідженнях (1.5 мМ), були надзвичайно високими, тобто, в 105 разів вищі, ніж вказана раніше границя сприйняття гіркої для денатоніума в організмі людини (Saroli, *Naturwissenschaften* 71:428-429 (1984)). Таким чином, не виявлено специфічного гіркої ліганду, повністю сумісного з будь-яким з hT2R4. Також було зроблене припущення про те, що кожен з hT2R4 здатний зв'язувати велику кількість гірких лігандів. Це припущення ґрунтується на тому факті, що родина hT2R4 складається всього з 25 ідентифікованих рецепторів, у той час як людина може визначати сотні різних сполук як гіркі. Послідовності hT2R4s були раніше опубліковані, й розкриті в опублікованих Заявках PCT Zuker et al. (WO 01/18050 A2, (2001)) і Adler et al. (WO 01/77676 A1 (2001)), обидві заявки включені в даний текст у повному об'ємі за допомогою посилання.

[0012] Одна зі складностей у дослідженні функцій T2R полягає в тому, що зазначені рецептори не вдається легко експресувати у культивуємих клітинних лініях ссавців. Для покращення експресії T2R, до послідовностей T2R приєднували N-термінальну послідовність добре експресуємого GPCR, родопсину (Chandrashekar et al., (Id.) 2000). Цей N-кінцевий фрагмент також дозволяв з легкістю контролювати експресію білка за допомогою доступного антитіла. Додатково, для покращення експресії T2R, застосовували SSTR3 кінцевий фрагмент (Bufe et al., *Nat. Genet.* 32:397-400 (2002)), інший N-кінцевий фрагмент. Незважаючи на те, що введення родопсинового кінця покращувало експресію деяких T2R у клітинних лініях ссавців, багато хто з них не експресувалися у ступені, достатньому для дослідження функцій. При застосуванні іншої методики, mT2R5 успішно експресували в клітинах комах Sf9, і їх використовували в дослідженнях функцій за допомогою біохімічного аналізу зв'язування GTPγS (Chandrashekar et al., (Id.) 2000).

[0013] У своїй більш ранній заявці США Сер. № 09/825,882, у даний час патент США № 7,105,650, Заявники даної заявки на патент виявили й представили послідовності нуклеїнових кислот і послідовності поліпептидів декількох нових на момент публікації смакових рецепторів людини, включаючи hT2R51, hT2R54, hT2R55, hT2R61, hT2R63, hT2R64, hT2R65, hT2R67, hT2R71, і hT2R75. На додаток, у заявках на патент США Сер. № 11/182,942 й 10/628,464, включених у даний опис цілком за допомогою посилання, заявники представляють послідовності поліпептидів і ДНК іншого виділеного нового смакового рецептора, названого hT2R76.

[0014] Також, у заявці на патент США Сер. № 10/191,058, повністю включеній в даний текст за допомогою посилання, Заявники виявили ліганди, що специфічним чином активують три різних T2R людини. На додаток, Заявники недавно подали Заявку на Патент США Сер. № 11/455,693, поміщену в даний текст цілком за допомогою посилання, у якій далі ідентифікують гіркі ліганди, що специфічним чином зв'язуються з іншими T2R людини, і надають відповідні аналізи.

[0015] Також, відносно практичного здійснення даного винаходу, були опубліковані дані про те, що обидва види смакових рецепторів: T2R й T1R експресуються в шлунково-кишковому тракті. Наприклад, Wu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(4):2392-7(2002) повідомляли про те, що T2R експресуються в ендокринних клітинах ШКТ (клітини STC1), так само як субодиноці густдучину й трансдучину, і про те, що ці клітини, імовірно, реагують на гіркі ліганди в шлунково-кишковому тракті. Також, Chen et al., *AM J. Physiol. Cell Physiol.* 291(4):C726-39 (2006)

повідомляли, що зазначені збудники гіркої смаку індукують передачу сигналу за участю Ca^{++} і вивільнення холецистокініну (ССК) в ендокринних клітинах STC-1. Також, Rozengurt, A J Physiol Gastrointest Liver Physiol 291(2):G171-7 (2006) повідомляють, що смакові рецептори в кишечнику, імовірно, відіграють роль у молекулярній чутливості й контролюють травні функції й гормональні та/або нервові шляхи, а також про те, що вони можуть відігравати роль у розпізнаванні шкідливих препаратів і реакціях виживаності. Далі, в Sternini Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 292(2):G457-61 (2007) повідомляється, що смакові рецептори в кишечнику можливо беруть участь у травних функціях, таких як молекулярна чутливість, усмоктування живильних сполук, захист від шкідливих сполук, і, далі, висловлене припущення, що розуміння цих механізмів може мати значення в лікуванні таких хворобливих станів, як розлади травлення й запалення. Далі, недавно Mace et al., J Physiol. 2007 (Epub) було зроблене припущення про те, що T2R й T1Rs активують фосфоліпазу C бета 2, PLC beta2, й, імовірно, у кишечнику існує молекулярна сенсорна система, подібна до системи, наявної в клітинах язика, і такі клітини кишечника, як клітини ресничатого епітелію або одиночні хемосенсорні клітини, що експресують смакові рецептори, можуть викликати підвищення вмісту GLUT2, і брати участь у розпізнаванні живильних сполук, а також у регуляції харчування при лікуванні ожиріння й різних видів діабету. Також, Cui et al, Curr Pharm Des. 12(35):4591-600 (2006) припускають, що T1Rs, що експресуються в кишечнику, можна використовувати в дослідженні сполук, призначених для лікування ожиріння та діабетів, а також як штучні підсолоджувачі.

[0016] Проте, незважаючи на всі опубліковані дані й розуміння того, що рецептори родини T2R регулюють сприйняття гіркої смаку, і, можливо, беруть участь у травній функції, існує необхідність у визначенні конкретних лігандів, що активують смакові рецептори людини T2R. Краще розуміння здатності до зв'язування різних T2R, зокрема, T2R людини, буде дуже корисним, оскільки воно буде полегшувати їх використання у виборі сполук із бажаними властивостями модуляції смаку, тобто, блокуючих або інгібуючих смак окремих гірких сполук. Також, воно буде сприяти ідентифікації сполук, що підходять для лікування й модуляції шлунково-кишкових функцій і пов'язаних з ними захворювань, таких як ожиріння, діабет, порушення усмоктування їжі, розпізнавання їжі, харчові розлади, і в регуляції пов'язаних із цією функцією гормонів і пептидів, таких як GLUT2, холецистокін та інші.

Короткий опис винаходу

[0017] Відповідно, даний винахід пов'язаний з виявленням того факту, що hT2R8 й hT2R14 активуються збагаченою гіркими сполуками фракцією кави.

[0018] Також, згідно із даним винаходом запропоноване застосування винаходу для визначення антагоністів hT2R8 й hT2R14, інгібуючих або блокуючих гіркий смак кави та пов'язаних з кавою продуктів, напоїв і медикаментів.

[0019] Далі, даний винахід відноситься до специфічних сполук-антагоністів (блокаторів гіркої смаку), що придушують гіркий смак кави та харчових продуктів, напоїв і медикаментів з додаванням кави.

[0020] Також, даний винахід відноситься до виявлення ліганду, що має властивості антагоніста гіркої смаку широкого спектра дії, тобто, він у значній мірі блокує або інгібує активацію багатьох (13) рецепторів гіркої смаку рядом різних гірких лігандів, і блокує або інгібує активацію шести інших рецепторів гіркої смаку, а також інгібує гіркоту, що викликається деякими гіркими сполуками, рецептор(и) гіркої смаку до яких не виявлені в даний час.

[0021] Зокрема, даний винахід відноситься до виявлення ліганду, зазначеного в даному описі як сполука С, що має властивості антагоніста гіркої смаку широкого спектра дії, тобто, він у значній мірі блокує або інгібує активацію hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65 й 71 рецепторів гіркої смаку рядом різних гірких лігандів, і блокує або інгібує активацію шести інших рецепторів гіркої смаку, тобто, hT2R5, 9, 13, 54, 67 й 75, а також інгібує гіркоту, що викликається деякими гіркими сполуками, рецептор(и) гіркої смаку до яких не виявлені в даний час.

[0022] Також, зокрема, згідно із даним винаходом, виявлено, що така сполука-антагоніст послабляє гіркий смак саліцину, антагоніста hT2R16, і фенілтіосечовини, агоніста hT2R51.

[0023] Також, зокрема, згідно із даним винаходом, виявлено, що та ж само сполука-антагоніст блокує гіркий смак, що викликається гіркими сполуками, що активують кілька рецепторів гіркої смаку, включаючи омепазол, який активує hT2R10, 14 й 75; Ребаудіозид А, природний підсолоджувач, що активує, щонайменше, 7 рецепторів гіркої смаку; і що та ж сполука-антагоніст також придушує гіркий смак, що викликається гіркими сполуками, для яких невідомі рецептори гіркої смаку, з якими вони взаємодіють, включаючи декстрометорфан і дифенгідрамін.

[0024] Даний винахід відноситься також до застосування сполуки згідно із даним винаходом

й близьких до неї сполук у харчових продуктах, напоях, медикаментах, та інших засобах, що забезпечує послаблення їх гіркої смаку, включаючи гіркий смак, що викликається невстановленими гіркими лігандами або сполуками, у випадку, коли відчуття гіркоти викликається активацією декількох рецепторів гіркої смаку, або у випадку, коли його специфічність до рецептора(ів) не встановлена.

[0025] Також, даний винахід відноситься до харчових продуктів, напоїв і медикаментів, що містять щонайменше одну з ідентифікованих сполук-антагоністів гіркої, у кількості, достатній для того, щоб інгібувати або блокувати їх гіркий смак.

[0026] Факти, на яких оснований даний винахід, були виявлені за допомогою клітинного аналізу, в якому вимірювали активність T2R, використовуючи клітини, що експресують певний T2R у присутності або під час відсутності специфічних лігандів. Зокрема, як описано нижче в детальному описі, у клітинному аналізі по визначенню змін концентрації внутрішньоклітинного кальцію, в якому використовували клітинні лінії НЕК, що експресують на своїй поверхні зазначені вище специфічні T2R, які далі експресували химерний G-білок, функціонально зв'язаний із зазначеними T2R, встановили, що вони специфічним чином активуються певними гіркими сполуками, у той час, як інші hT2R в аналогічних умовах не активувалися.

[0027] Таким чином, даний винахід охоплює застосування зазначених вище рецепторів смаку людини в засобах (способах) аналізу, переважно – у високопродуктивних засобах аналізу, для визначення інших сполук, модулюючих, переважно, блокуючих, активацію таких рецепторів зазначеною та іншими гіркими сполуками, що є присутніми у каві й родинних кавових харчових продуктах і напоях.

[0028] Також, згідно із даним винаходом запропоноване застосування зазначених рецепторів для ідентифікації сполук, що викликають відчуття гіркої смаку, які зокрема, є присутніми у каві й харчових продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави.

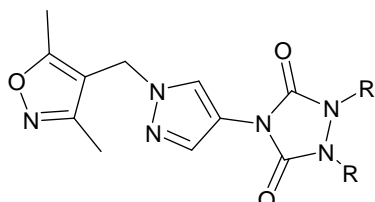
[0029] Також, згідно із даним винаходом запропоноване застосування сполуки-антагоніста, що має властивості антагоніста гіркої смаку широкого спектра дії, засоби аналізу й смакових проб *in vitro* й *in vivo* для визначення гіркої(их) сполук(и) або гірких фракцій, для яких дана сполука придушує відчуття гіркої смаку, вживання яких інгібує дана сполука, та/або придушують активацію одного або більше рецепторів гіркої смаку зазначеною гіркою сполукою або фракцією, що містить зазначену гірку сполуку.

[0030] Далі, зокрема, згідно із даним винаходом запропоноване застосування зазначеної сполуки, що має властивості антагоніста гіркої смаку широкого спектра дії, у харчових продуктах, напоях, медикаментах, й інших продуктах споживання, призначених для людей або тварин, інтенсивність гіркої смаку яких бажано знизити.

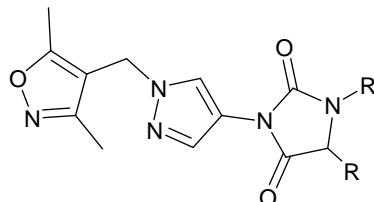
[0031] Даний винахід також охоплює способи аналізу, що включають додатковий етап оцінки впливу ідентифікованих модулюючих сполук для людини та в інших смакових пробах, і, зокрема, оцінку впливу ідентифікованих сполук на гіркий смак, зокрема, гіркий смак кави та фракцій кави, що містять одну або більше сполук, які викликають відчуття гіркої смаку.

[0032] Далі, даний винахід включає одержання кави й харчових продуктів, напоїв і медикаментів з додаванням кави, з яких видаляють сполуки, специфічним чином активуючі описані вище рецептори гіркої смаку, наприклад, харчових продуктів і напоїв, які піддають обробці з видаленням або зниженням кількості гірких сполук, що є присутніми в них.

[0033] Відповідно до деяких аспектів даного винаходу, також запропоновані структурні класи сполук, представлені двома наведеними нижче Каркасами Структурами. На Каркасній Структурі 1 зображений приклад уразолінового каркаса, а на Каркасній Структурі 2 - приклад гідантоїнового каркаса.



Каркасна Структура 1



Каркасна Структура 2

[0034] Іншою конкретною задачею даного винаходу є застосування наведених вище сполук й аналогів структур 1 й 2 як інгібіторів гіркої, опосередкованих рецепторами T2R8, застосованих у харчовій/фармацевтичній галузях для послаблення гіркоти, зокрема, кави та продуктів, напоїв і медикаментів з додаванням кави.

[0035] Іншою задачею даного винаходу є підтвердження того, що встановлені сполуки

модулюють, переважно, інгібують або блокують, гіркий смак, наприклад, у каві та харчових продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави, за допомогою смакової проби за участю людини або тварин, переважно, за допомогою смакової проби за участю людини. У Прикладі 1 наведені типові дані чутливості до однієї з таких сполук. Дані ясно показують значне зменшення гіркоти для специфічного агоніста T2R8 і значне підвищення ефективності в порівнянні з відомим інгібітором T2R8.

[0036] Іншою задачею даного винаходу є застосування сполук згідно із даним винаходом як добавок або підсилювачів смаку в композиціях для інгібування або блокування гіркового смаку, що викликається сполуками, специфічним чином активуючими рецептори гіркового смаку. Переважною задачею винаходу є застосування сполуки, інгібуючої активацію рецепторів T2R8, для блокування гіркового смаку сполук, що є присутніми у каві та продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави.

[0037] Сполуки, ідентифіковані згідно із даним винаходом, можна додавати в харчові продукти, напої, косметичні засоби або медичні композиції для модулювання, переважно, блокування гіркового смаку, що викликається активацією hT2R8 гіркими сполуками, що є присутніми у каві й родинних кавових харчових продуктах, напоях і медикаментах, або подібними за структурою сполуками, або іншими гіркими сполуками, наприклад, що зустрічаються в харчових продуктах і напоях, або медикаментах і косметичних засобах, і що викликають відчуття гіркового смаку.

Мета винаходу

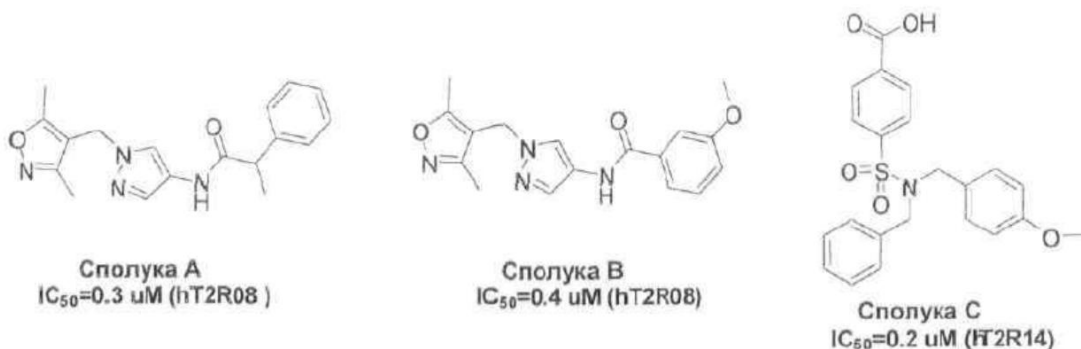
[0038] Задачею даного винаходу є представлення методів дослідження із застосуванням hT2R8 та/або hT2R14, а також їх химерних варіантів і модифікацій, що визначають сполуки й композиції, які містять такі сполуки, що викликають або блокують гіркий смак кави й харчових продуктів, напоїв і медикаментів з додаванням кави.

[0039] Конкретною задачею даного винаходу є забезпечення способів аналізу, для ідентифікації сполук, активуючих, або блокуючих, або модулюючих активацію та/або зв'язування hT2R8 із сполуками або композиціями, що містять сполуки, пов'язані з гірким смаком кави.

[0040] Також конкретною задачею даного винаходу є забезпечення способів аналізу, для ідентифікації сполук, активуючих, або блокуючих, або модулюючих активацію та/або зв'язування hT2R14 із сполуками або композиціями, що містять сполуки, пов'язані з гірким смаком кави.

[0041] Іншою конкретною задачею даного винаходу є забезпечення конкретних сполук, встановлених за допомогою способів аналізу згідно із даним винаходом й композицій, що їх містять, особливо, у складі кави й харчових продуктів, напоїв і медикаментів з додаванням кави.

[0042] Конкретною задачею даного винаходу є забезпечення сполук, наведених нижче, що є антагоністами T2R8 й T2R14, для яких було показано, що вони блокують гіркий смак кави.



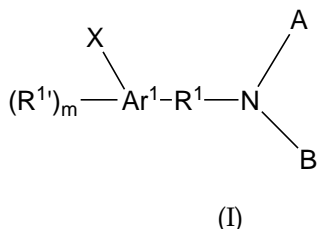
[0043] Іншою конкретною задачею даного винаходу є застосування сполук, зображених вище, а також аналогів Сполуки А, Сполуки В, і Сполуки С як інгібіторів гіркового смаку для послаблення гіркового смаку, опосередкованого рецепторами T2R8 та/або T2R14, у харчовій/фармацевтичній галузях, зокрема, у каві й продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави.

[0044] Іншою конкретною задачею даного винаходу є застосування Сполуки С та її аналогів як інгібіторів гіркового смаку широкого спектра дії для послаблення відчуття гіркового смаку, опосередкованого кожним з перерахованих рецепторів людини: T2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55,

61, 63, 64, 65, або 71 та/або T2R5, 9, 13, 54, 67 або 75, у харчовій/фармацевтичній галузях, зокрема, у харчових продуктах, напоях і медикаментах, що містять велику кількість гірких сполук, гіркі сполуки, що взаємодіють із множинними рецепторами гіркового смаку, або гіркі сполуки, специфічність до рецепторів яких не відома.

5 [0045] Ще одна конкретна задача даного винаходу полягає в забезпеченні сполук, які можуть бути представлені наступними формулами.

[0046] Відповідно щодо першого аспекту, запропонована сполука структурної формули (I):



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки, де:

10 Ar^1 являє собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце; m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

R^1 являє собою SO_2 ; $\text{C}=\text{O}$; $\text{C}=\text{S}$; або $\text{C}=\text{NOR}^4$;

15 X обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, ариалалкіл, заміщений ариалалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(=\text{NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

20 кожен R^1 незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, ариалалкіл, заміщений ариалалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(=\text{NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

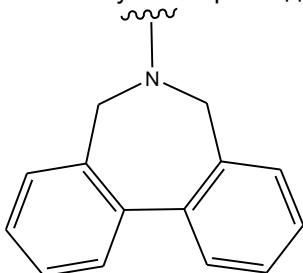
25 або, альтернативним чином, X та/або щонайменше один R^1 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють арильне, заміщене арильне, гетероарильне, заміщене гетероарильне, циклоалкільне, заміщене циклоалкільне, циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце, при цьому кільце може бути конденсоване із ще одним арильним, заміщеним арильним, гетероарильним, заміщеним гетероарильним, циклоалкільним, заміщеним циклоалкільним, циклогетероалкільним або заміщеним циклогетероалкільним кільцем;

30 $\text{R}^4\text{-R}^8$ незалежно обрані з групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, ариалалкіл, заміщений ариалалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл і заміщений гетероарилалкіл, або, альтернативним чином, R^5 й R^6 , R^6 й R^7 , R^7 й R^8 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

A і B незалежно обрані з групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, ариалалкіл, заміщений ариалалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл; і

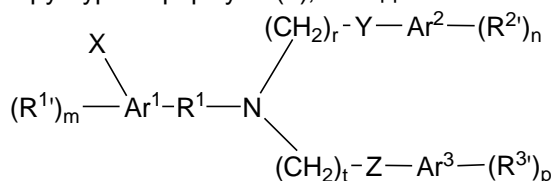
40 b дорівнює 0, 1 або 2.

[0047] Відповідно до деяких варіантів реалізації винаходу, A і B разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють кільце, яке може бути конденсоване з додатковими заміщеними або незаміщеними кільцями і може містити щонайменше один подвійний зв'язок. Необмежуючий приклад такого кільця включає групу, що має формулу:



45

[0048] Відповідно щодо другого аспекту, у даному винаході запропоновані сполуки структурної формули (II), наведеної нижче:



(II)

або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук, де:

Ar¹, Ar² і Ar³ незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце;

m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n й r незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

t незалежно дорівнюють 0, 1 або 2;

Y й Z незалежно обрані із групи, що включає CR⁶R⁷, C=O, C=S, C=NOR⁶, O, NR⁶ й S(O)_b;

R¹ обраний із групи, що включає SO₂, C=O, C=S й C=NOR⁴;

X можна вибрати із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, -OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

X переважно обраний із групи, що включає водень, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, S(O)_bR⁶, CONR⁶R⁷, -CO₂R⁶, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶).

кожен R¹ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

кожен R² незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(OR⁵)(OR⁶);

кожен R³ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

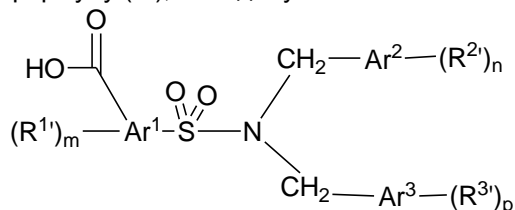
або, альтернативним чином, X та/або щонайменше один з R¹ разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють арильне, заміщене арильне, гетероарильне, заміщене гетероарильне, циклоалкільне, заміщене циклоалкільне, циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце, при цьому зазначене кільце може бути конденсоване із ще одним арильним, заміщеним арильним, гетероарильним, заміщеним гетероарильним, циклоалкільним, заміщеним циклоалкільним, циклогетероалкільним або заміщеним циклогетероалкільним кільцем;

R⁴-R⁸ незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R⁵ й R⁶, R⁶ й R⁷, R⁷ й R⁸ разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

b дорівнює 0, 1 або 2.

[0049] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропоновані сполуки, що мають структурну

формулу (III), наведену нижче:



(III)

або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук, де:

Ar¹, Ar² й Ar³ незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце, при цьому Ar² і Ar³ можуть бути відсутніми;

m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R¹ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)₆R⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

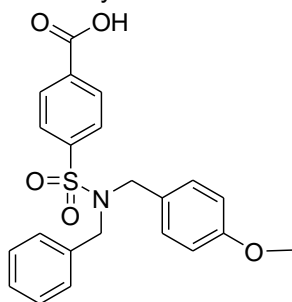
кожен R² незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)₆R⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

кожен R³ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN, NO₂, OR⁶, S(O)₆R⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

R⁵-R⁸ незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R⁵ й R⁶, R⁶ й R⁷, R⁷ й R⁸ разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

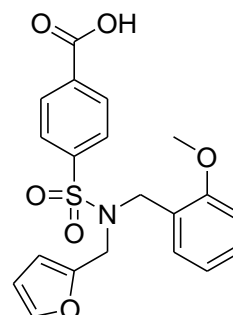
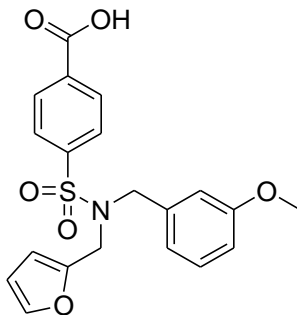
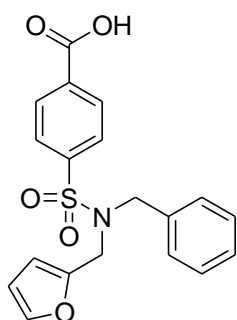
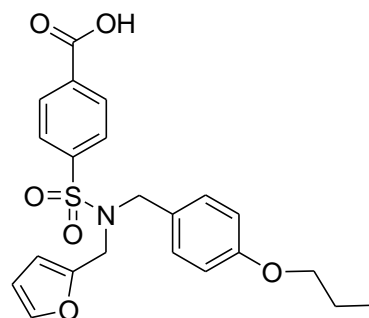
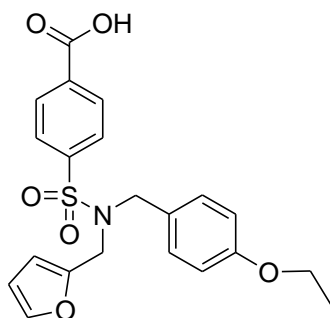
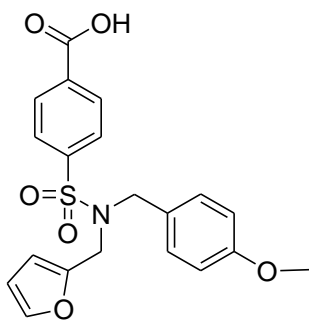
b дорівнює 0, 1 або 2.

[0050] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропонована сполука, що має структуру, представлену нижче:



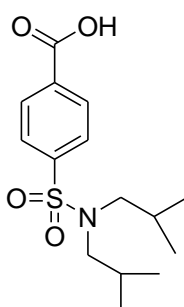
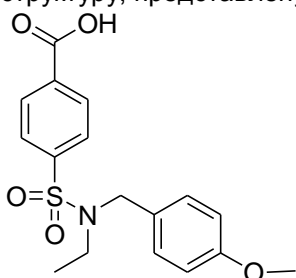
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначеної сполуки.

[0051] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

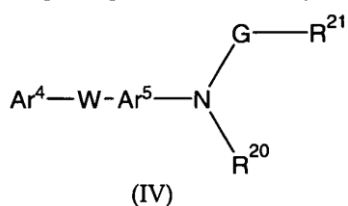
[0052] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



5

або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

[0053] Відповідно до родинного аспекту, запропонована сполука структурної формули (IV):



або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначеної сполуки, де:

10 Ar^4 і Ar^5 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне або гетероарильне кільце;

W обраний із групи, що включає CR^6R^7 , $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{S}$, $\text{C}=\text{NOR}^6$; O , NR^6 , S , SO , SO_2 і $(\text{CH}_2)_n$; n дорівнює 0, 1, 2 або 3;

G обраний із групи, що включає CR^6R^7 , $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{S}$, $\text{C}=\text{NOR}^6$ й $\text{S}(\text{O})_b$;

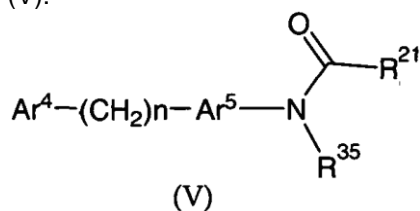
15 R^{20} обраний із групи, що включає водень, арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

R^{21} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

20 R^6 і R^7 незалежно обрані із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл, або,

альтернативним чином, R^6 й R^7 разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалکیلне або заміщене циклогетероалکیلне кільце; і
b дорівнює 0, 1 або 2.

[0054] Згідно ще одному родинному аспекту, запропонована сполука структурної формули (V):



або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначеної сполуки, де:

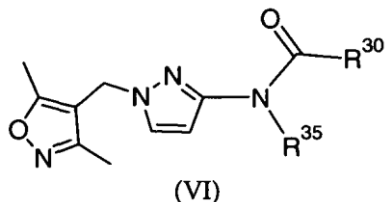
Ar^4 й Ar^5 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне або гетероарильне кільце;

n дорівнює 0, 1, 2 або 3;

R^{21} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

R^{35} обраний із групи, що включає водень, алкіл і заміщений алкіл.

[0055] Відповідно до додаткового варіанта реалізації, у винаході запропонована сполука структурної формули (VI)

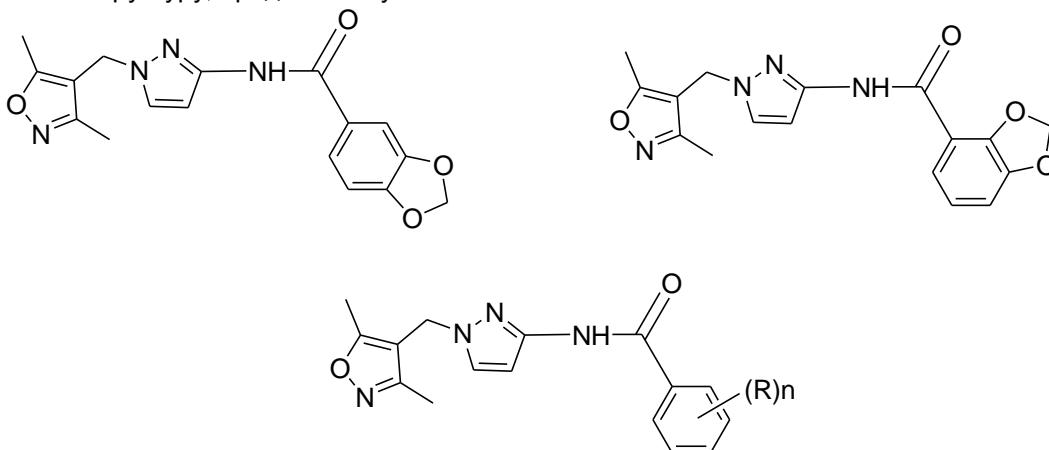


або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначеної сполуки, де:

R^{30} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

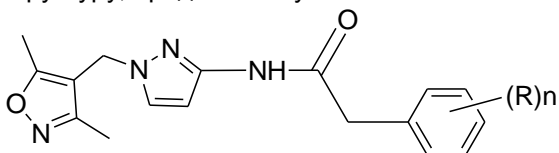
R^{35} обраний із групи, що включає водень, алкіл і заміщений алкіл.

[0056] Відповідно до додаткового варіанта реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



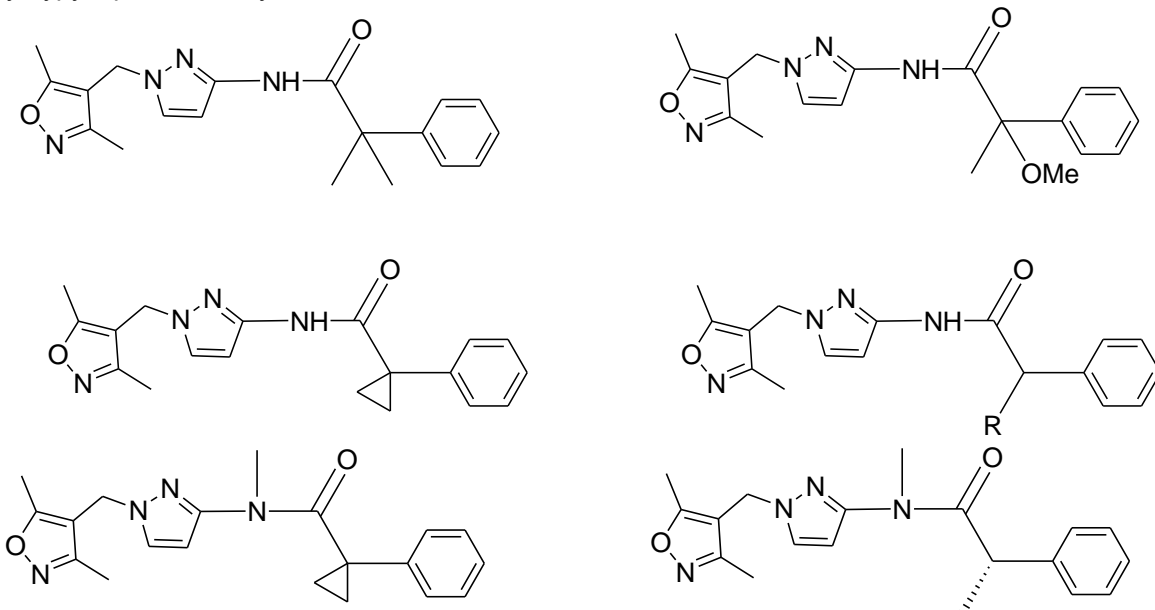
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук, де кожен R незалежно являє собою Cl, MeO, CN, EtO, OH, Me, $-\text{SO}_2\text{Me}$, F або H, і n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

[0057] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



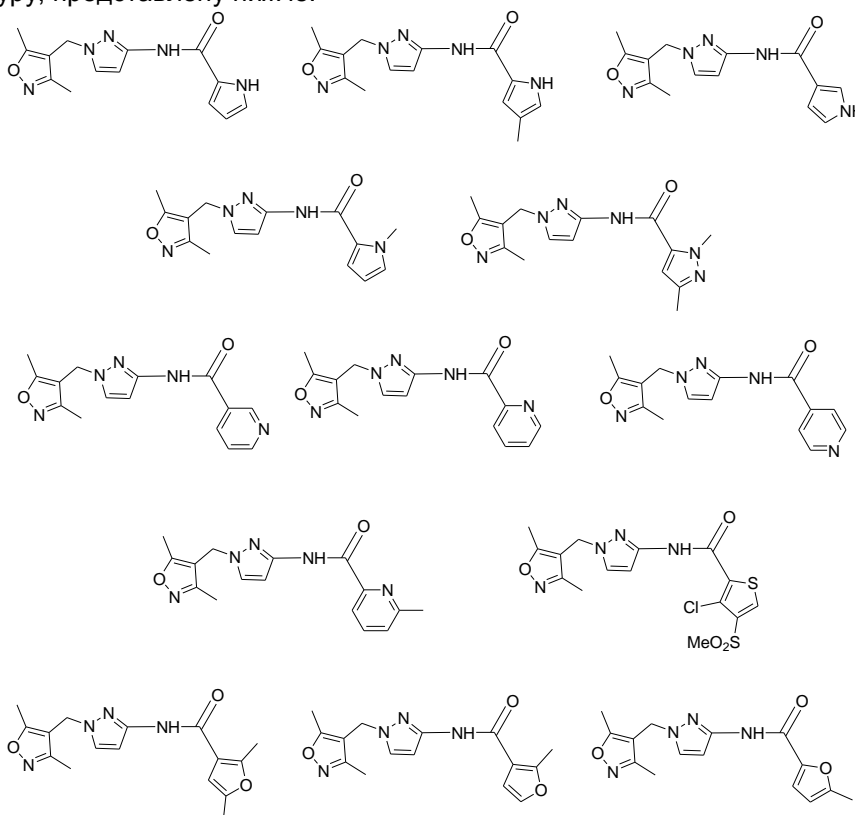
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук,
де кожен R незалежно являє собою MeO або OH, і
n дорівнює 0,1,2,3 або 4.

- 5 [0058] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



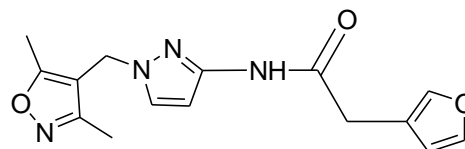
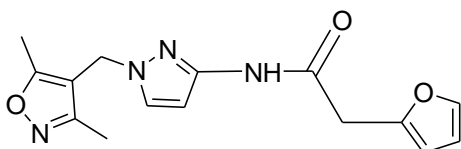
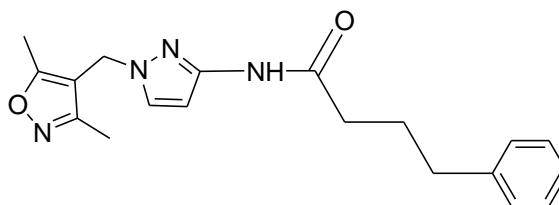
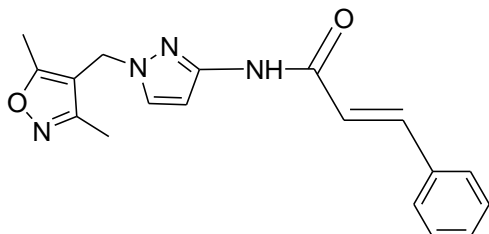
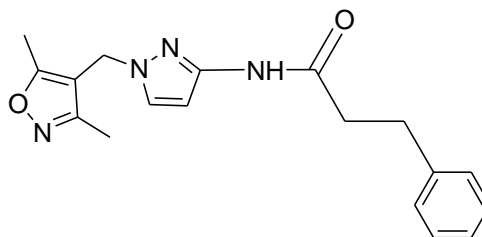
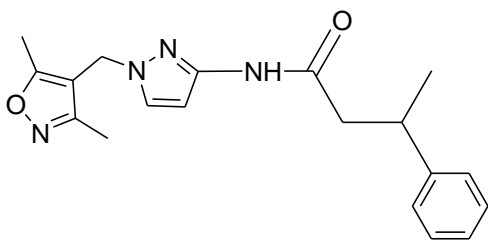
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук,
де R являє собою H, Me, Et, OCOMe, CH₂OH, OMe або Ph.

- 10 [0059] Відповідно до наступних варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



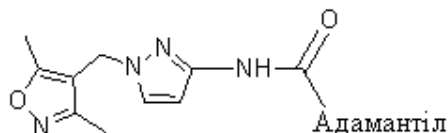
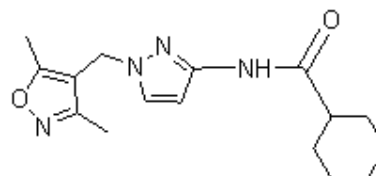
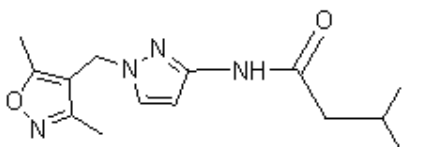
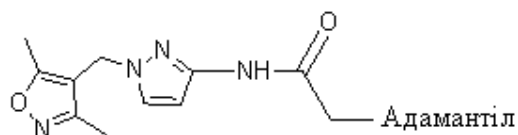
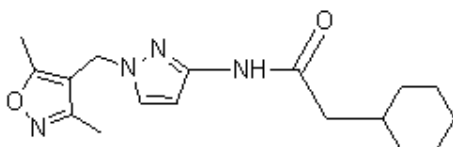
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

- 15 [0060] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

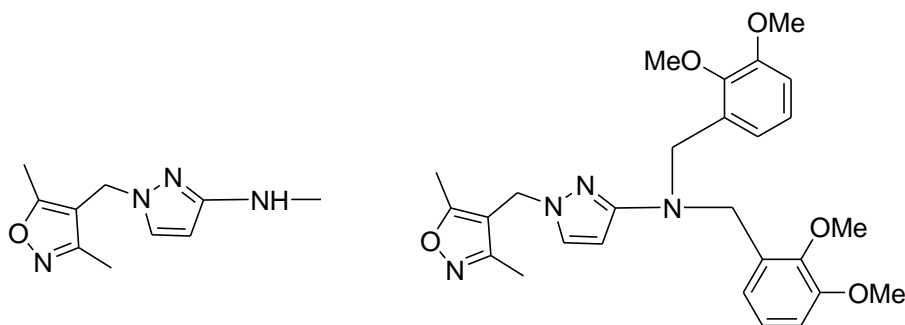
[0061] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



5

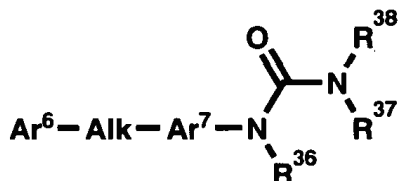
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

[0062] Відповідно до наступних варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

[0063] Відповідно до одного аспекту, даний винахід відноситься до сполуки формули:



5 або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Ar^6 й Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою п'яти- або шестичленну арильну групу або п'яти- або шестичленну гетероарильну групу;

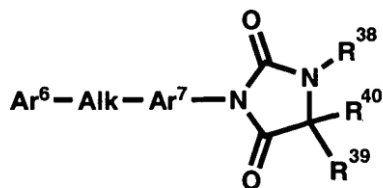
Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

10 R^{36} і R^{37} , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H або алкіл, або R^{36} й R^{37} разом з атомами, до яких вони приєднані, утворюють можливо заміщений п'яти- або шестичленний гетероцикл; і

15 R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл.

[0064] Відповідно до одного аспекту, сполуки згідно з винаходом містять п'ятичленний гетероцикл. Відповідно до одного варіанта реалізації, п'ятичленний гетероцикл являє собою 20 гідантоїн або заміщену або незаміщену циклічну сечовину.

[0065] Відповідно до одного варіанта реалізації, гідантоїн являє собою гідантоїн формули:



або сіль, гідрат, сольват, N-оксид або проліки зазначеної сполуки,

25 де Ar^6 і Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою п'яти- або шестичленну арильну групу або п'яти- або шестичленну гетероарильну групу;

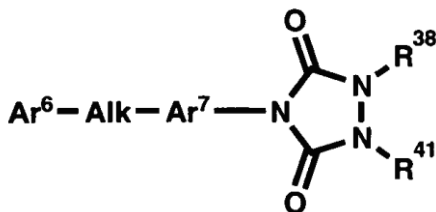
Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

30 R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл; і

35 R^{39} і R^{40} , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або

незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R^{39} й R^{40} разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють C=O групу або заміщену або незаміщену алкенільну групу.

- 5 [0066] Згідно ще одному аспекту, сполуки згідно з винаходом містять п'ятичленний гетероцикл, який являє собою уразол. Відповідно до одного варіанта реалізації, уразол являє собою уразол формули:

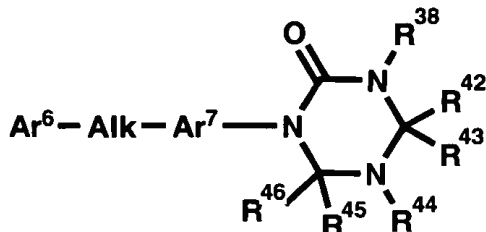


- або сіль, гідрат, сольват, N- оксид або проліки зазначеної сполуки,
де Ar^6 і Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють
10 собою п'яти- або шестичленну арильну групу або п'яти- або шестичленну гетероарильну групу;
 Alk являє собою алکیلну групу, що можливо містить гетероатом;

- R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або
незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений
15 гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений
арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений
гетероарилалкіл або галоалкіл; і

- R^{41} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або
20 незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений
арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або
незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений
або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або
незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл.

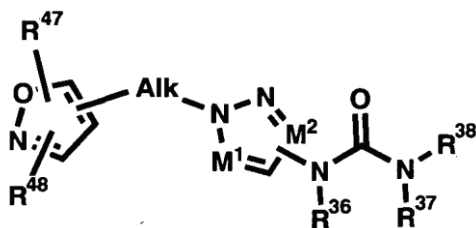
- 25 [0067] Згідно ще одному аспекту, сполуки згідно з винаходом містять шестичленний гетероцикл. Відповідно до одного варіанта реалізації, шестичленний гетероцикл являє собою шестичленний гетероцикл формули:



- або сіль, гідрат, сольват, N-оксид або проліки зазначеної сполуки,
30 де R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або
незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений
гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений
арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений
35 гетероарилалкіл або галоалкіл; і

- R^{42} , R^{43} , R^{44} , R^{45} й R^{46} , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного,
являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений
арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений
40 гетероарилалкіл, або R^{42} й R^{43} або R^{45} й R^{46} разом з атомами вуглецю, до яких вони обидва
приєднані, утворюють C=O групу.

[0068] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



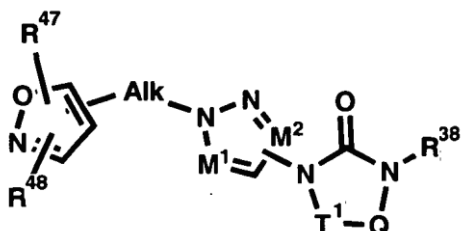
або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;
M¹ являє собою N або CR⁴⁹, де R⁴⁹ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
5 M² являє собою N або CR⁵⁰, де R⁵⁰ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
R³⁶ і R³⁷, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H або алкіл, або R³⁶ й R³⁷ разом з атомами, до яких вони приєднані, утворюють можливо заміщений п'яти- або шестичленний гетероцикл; і

R³⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
10 циклоалкіл алкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

R⁴⁷ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

R⁴⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

[0069] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;
T¹ являє собою C=O, і Q являє собою CR⁵¹R⁵² або NR⁵¹, де R⁵¹ й R⁵², які можуть бути
однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або
25 незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R⁵¹ й R⁵² разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють C=O групу або заміщену або незаміщену алкенільну групу;

M¹ являє собою N або CR⁴⁹, де R⁴⁹ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

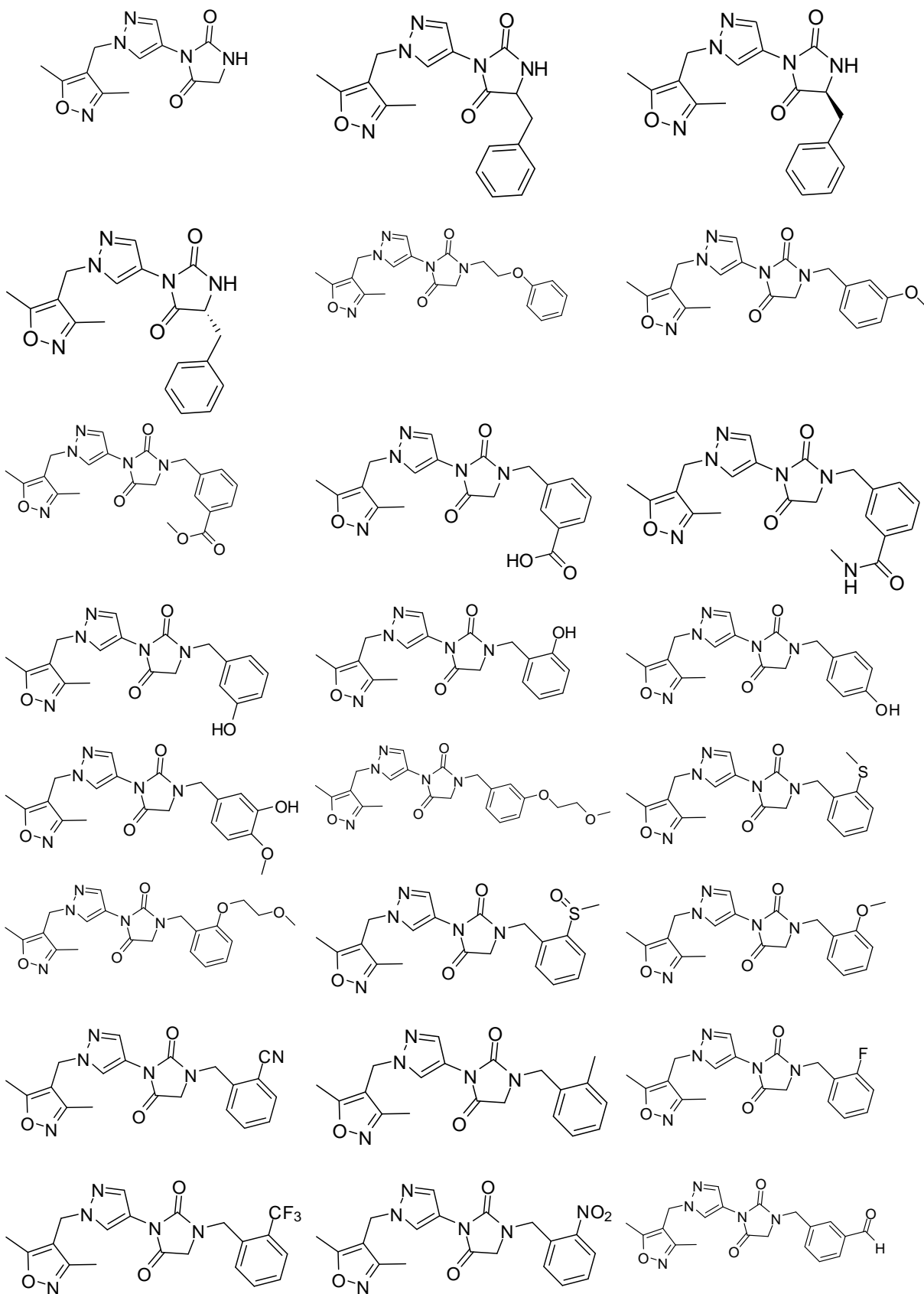
M² являє собою N або CR⁵⁰, де R⁵⁰ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

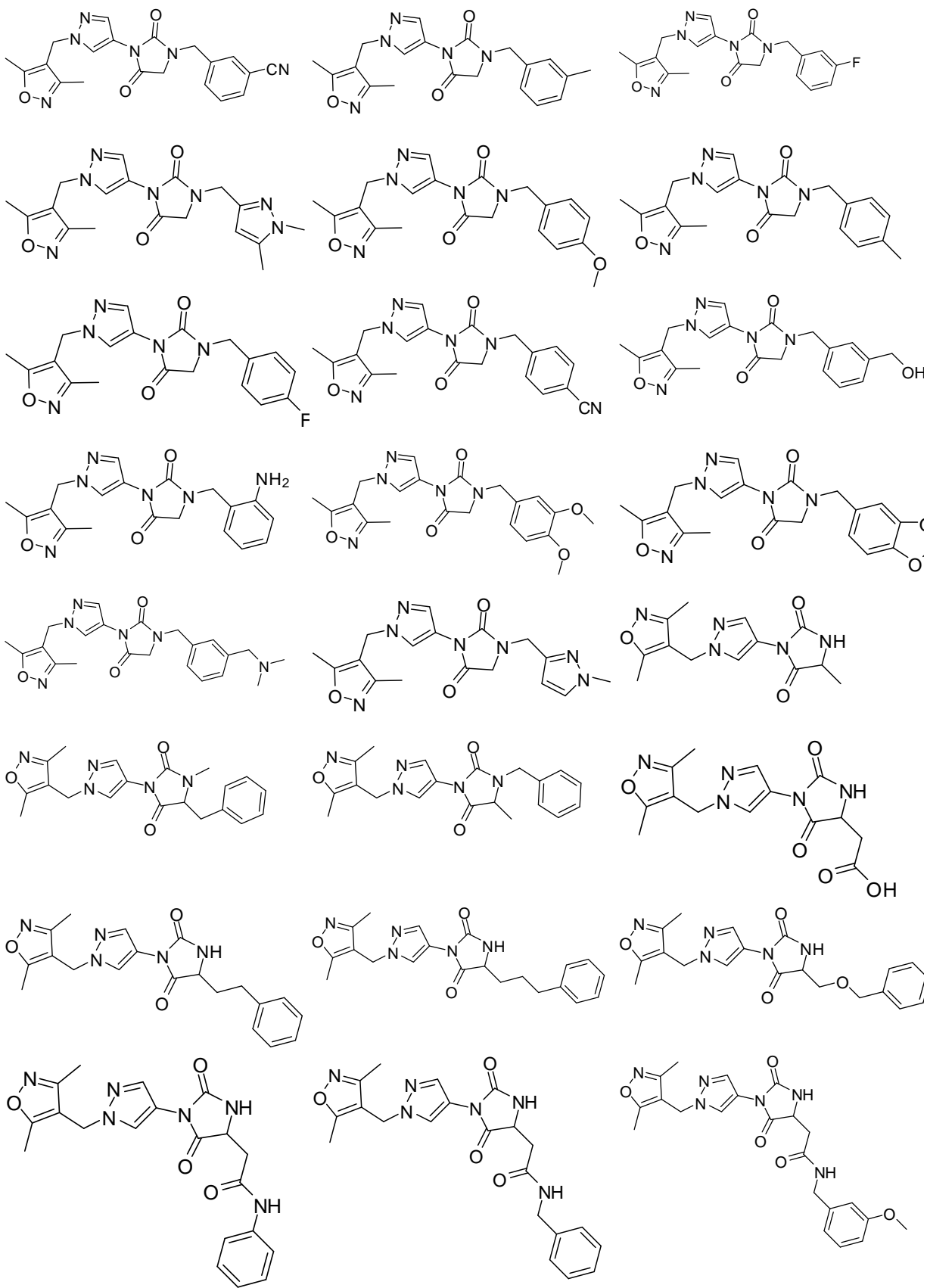
R³⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений
35 циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

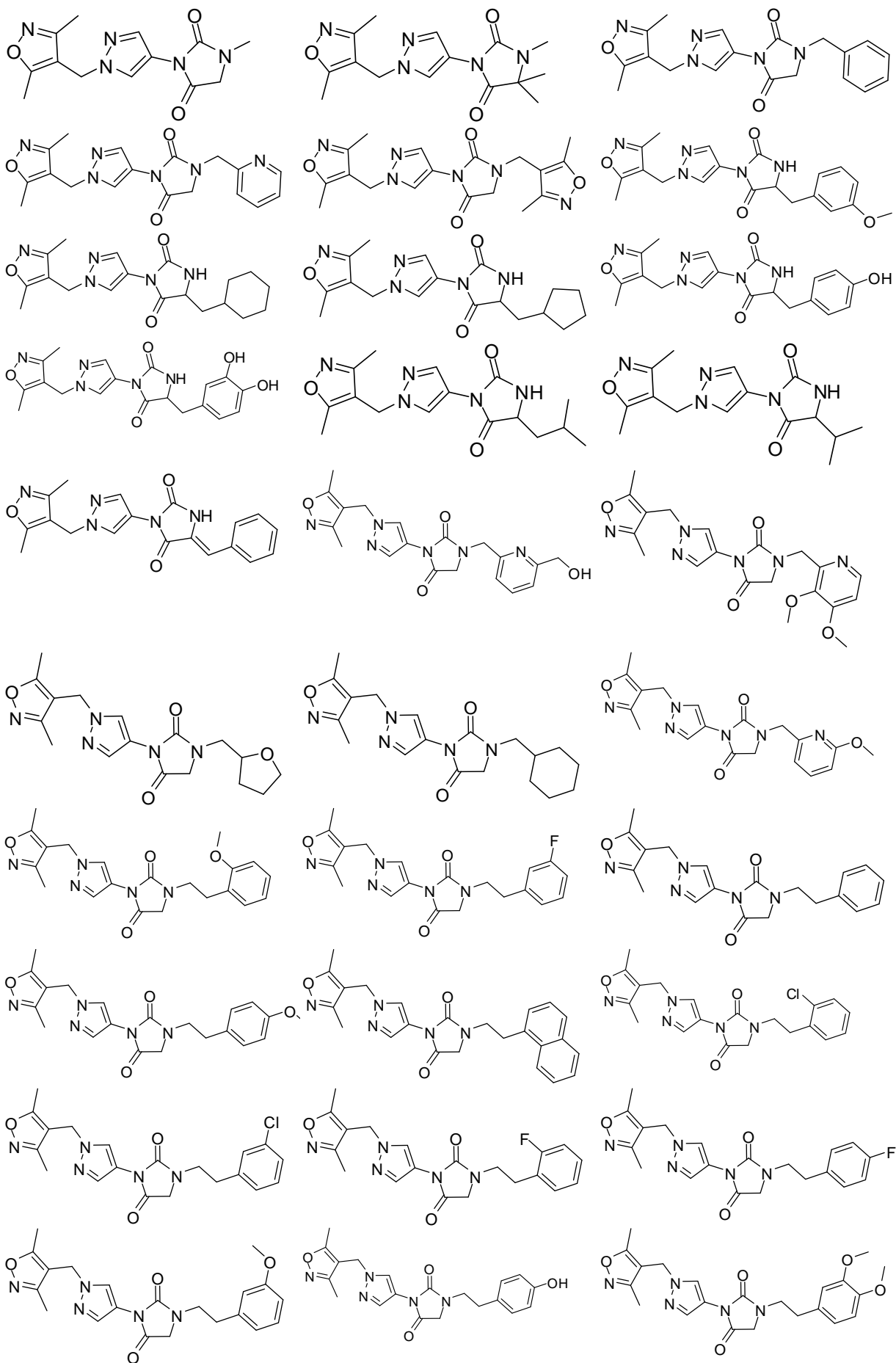
R⁴⁷ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

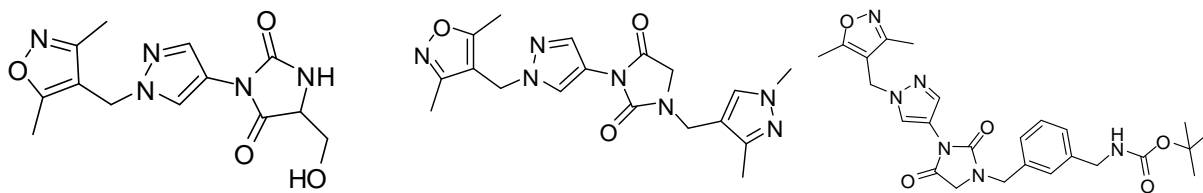
R⁴⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

[0070] Згідно ще одному варіанту реалізації, винахід відноситься до сполуки формули:



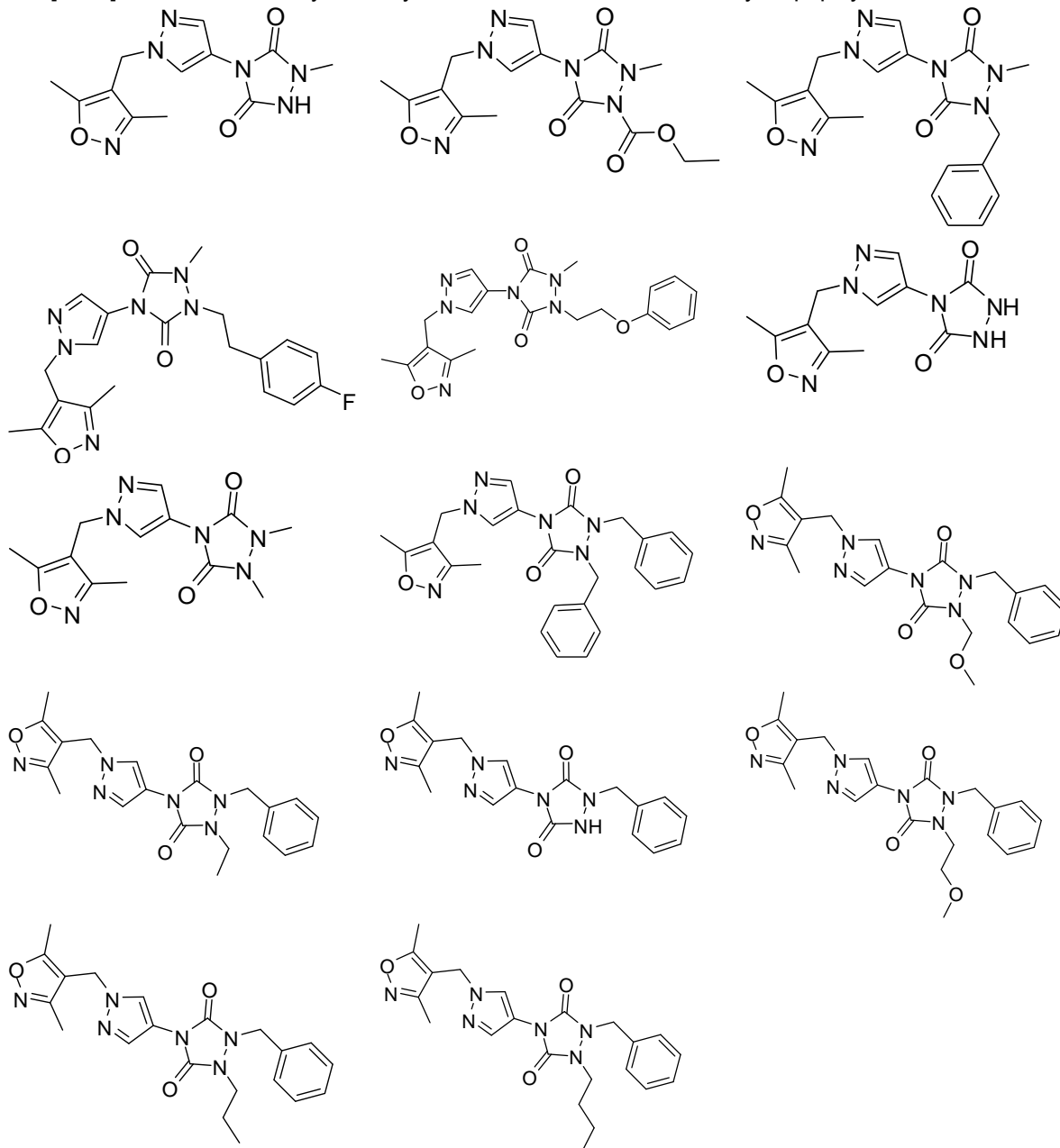






або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки.

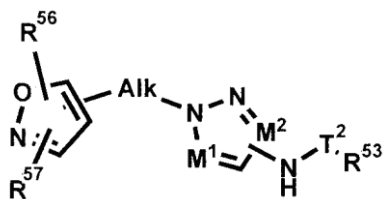
[0071] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



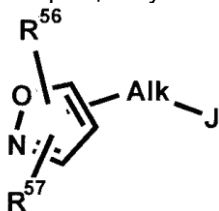
5

або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки.

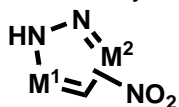
[0072] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



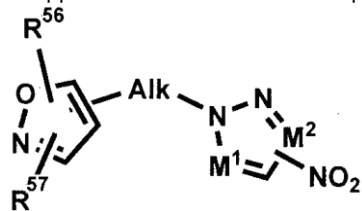
- або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;
T² являє собою C=S, C=O або S(O)₂;
5 R⁵³ являє собою заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл,
заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений арил або заміщений чи
незаміщений арилалкіл;
M¹ являє собою N або CR⁵⁴, де R⁵⁴ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
M² являє собою N або CR⁵⁵, де R⁵⁵ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
10 R⁵⁶ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і
R⁵⁷ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси,
заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;
при цьому зазначений спосіб включає хімічну взаємодію сполуки формули:



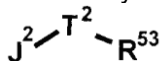
- 15 де R⁵⁶, R⁵⁷ і Alk визначені вище, і J являє собою групу, що відходить;
із сполукою формули:



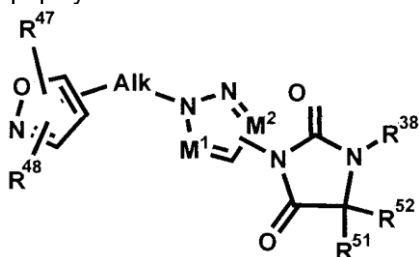
де M¹ і M² визначені вище, з одержанням сполуки формули



- 20 що містить NO₂ групу;
відновлення NO₂ групи з одержанням сполуки, що містить NH₂ групу; і
хімічну взаємодію сполуки, що містить NH₂ групу, з сполукою формули



- 25 де J² являє собою групу, що відходить, і T² й R⁵³ визначені вище.
[0073] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки
формули:



- 30 або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;
R⁵¹ і R⁵², які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють
собойо H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл,

заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R^{51} й R^{52} разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють заміщену або незаміщену алкенільну групу;

M^1 являє собою N або CR^{49} , де R^{49} являє собою H або заміщений чи незаміщений алкіл;

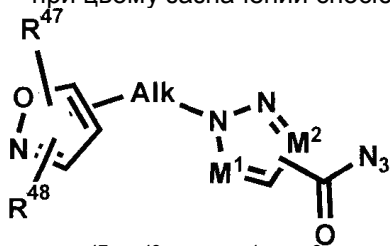
M^2 являє собою N або CR^{50} , де R^{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

R^{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

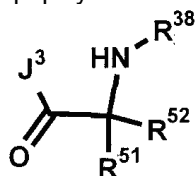
R^{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

при цьому зазначений спосіб включає нагрівання сполуки формули:



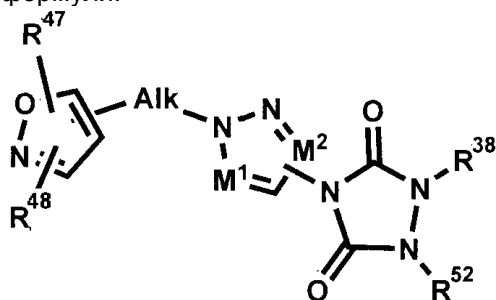
де R^{47} , R^{48} , Alk, M^1 й M^2 визначені вище;

для перетворення $-CON_3$ групи в $-N=C=O$ групу, і потім проведення реакції із сполукою формули:



де J^3 являє собою групу, що відходить, і R^{38} , R^{51} й R^{52} визначені вище.

[0074] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,

де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

R^{52} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл;

M^1 являє собою N або CR^{49} , де R^{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

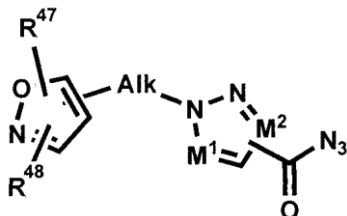
M^2 являє собою N або CR^{50} , де R^{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламід, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

R^{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

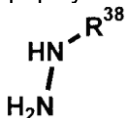
R^{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

при цьому зазначений спосіб включає нагрівання сполуки формули:



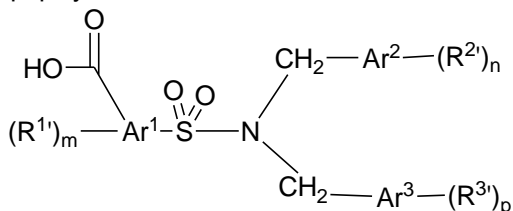
де R^{47} , R^{48} , Alk, M^1 й M^2 визначені вище;

для перетворення $-\text{CON}_3$ групи в $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ групу, і потім проведення реакції з гіdraзином формули:



де R^{38} визначений вище.

[0075] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



(III)

або солі, гідрату, сольвату або N-оксиду зазначеної сполуки, де:

Ar^1 , Ar^2 й Ar^3 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце, при цьому Ar^2 і Ar^3 можуть бути відсутніми;

m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R^1 незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S(O)}_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C(=NH)NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B(OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P(O)(OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P(O)(R}^5)(\text{OR}^6)$;

кожен R^2 незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S(O)}_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C(=NH)NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B(OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P(O)(OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P(O)(R}^5)(\text{OR}^6)$;

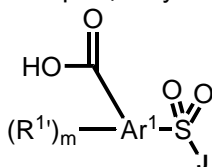
кожен R^3 незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S(O)}_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C(=NH)NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B(OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P(O)(OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P(O)(R}^5)(\text{OR}^6)$;

R^5 - R^8 незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R^6 і R^7 , R^7 і R^8 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалکیلне або

5 заміщене циклогетероалکیلне кільце;

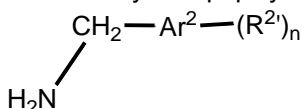
b дорівнює 0, 1 або 2;

при цьому зазначений спосіб включає хімічну взаємодію сполуки формули:



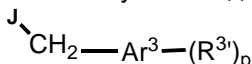
де J являє собою групу, що відходить;
із сполукою формули:

10



з одержанням продукту; і

хімічну взаємодію зазначеного продукту із сполукою формули:



15

де J являє собою групу, що відходить.

[0076] Згідно ще одного аспекту винаходу запропоновано застосовувати речовини, ідентифіковані за допомогою аналізів, описаних у даному описі, як добавки або модулятори смаку в композиціях з метою інгібування або блокування гіркового смаку, викликаного речовинами, які специфічно активують зазначені в даному описі смакові рецептори. Переважним об'єктом винаходу є застосування речовини, що інгібує активацію, щонайменше, одного із зазначених вище рецепторів T2R людини з метою блокування гіркового смаку речовин, що є присутніми у каві й продуктах, напоях та медикаментах з додаванням кави.

20

[0077] Іншим об'єктом винаходу є застосування речовин згідно із даним винаходом як інгібіторів гіркового смаку широкого спектра дії з метою інгібування або блокування гіркового смаку, викликаного речовинами, які специфічно активують смакові рецептори hT2R8, лігандами, що активують множинні смакові рецептори, гіркими речовинами з невідомою специфічністю до рецепторів, або композиціями, що містять невідомі гіркі сполки, або численні гіркі сполуки. Відповідно щодо одного варіанта здійснення, речовини згідно із даним винаходом застосовують для інгібування активації, щонайменше, одного із зазначених вище рецепторів T2R людини й, таким чином, блокування гіркового смаку речовин, що є присутніми у каві й продуктах, напоях і медикаментах зі смаком кави. Іншим об'єктом винаходу є підтвердження того, що речовини, ідентифіковані згідно із даним винаходом, модулюють, переважно інгібують або блокують гіркий смак, викликаний, наприклад, кавою й продуктами, напоями й медикаментами зі смаком кави, за допомогою смакових проб людини й тварин, переважно - за допомогою смакових проб людини.

25

30

35

[0078] Іншим об'єктом винаходу є застосування речовин, ідентифікованих за допомогою аналізів, описаних у даному тексті, як добавок або модуляторів смаку в композиціях з метою інгібування або блокування гіркового смаку, викликаного речовинами, які специфічно активують зазначені в даному описі смакові рецептори. Переважним об'єктом винаходу є застосування речовини, що інгібують активацію, щонайменше, одного із зазначених вище рецепторів T2R людини з метою блокування гіркового смаку речовин, що є присутніми у каві й продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави.

40

[0079] У найбільш переважному варіанті здійснення, Сполуку С та її аналоги застосовують як інгібітори гіркового смаку широкого спектра дії для інгібування або блокування гіркового смаку, що викликається речовинами, які специфічно активують смакові рецептори hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65, 71 та/або hT2R5, 9, 13, 54, 67 й 75, лігандами, що активують множинні смакові рецептори, гіркими речовинами з невідомою специфічністю до рецепторів, або композиціями, що містять невідомі гіркі сполуки, або численні гіркі сполуки. З урахуванням антагоністичних властивостей Сполуки С, вона повинна, по суті, пом'якшувати гіркий смак більшості гірких речовин й, що містять такі речовини композицій. Переважним об'єктом винаходу є застосування речовини, що інгібують активацію, щонайменше, одного із зазначених вище рецепторів T2R людини, такого, як Сполука С, або її аналог, з метою блокування гіркового смаку речовин, що є присутніми у каві й продуктах, напоях і медикаментах з додаванням кави.

50

Детальний опис фігур

[0080] Фіг. 1 відноситься до експериментів, у яких застосовували частково очищену гірку фракцію кави для скринінга 25 T2Rs людини в тимчасово трансфікованих клітинах НЕК, як описано в попередніх заявках на патент, включених у даний опис за допомогою посилання. Як

показано на Фіг. 1, фракція кави активувала клітини НЕК293, тимчасово трансфіковані hT2R8 й hT2R14 в аналізі, що використовує методику кальцієвого зображення. Для зниження рівня флуоресценції фракції кави, який міг перешкодити аналізу, застосовували синій барвник FD&C.

[0081] На Фіг. 2 представлена крива залежності $\Delta F/F$ від логарифма фракції кави, що демонструє залежність відповіді hT2R8 від дози фракції з гірким смаком, одержаної з кави.

Аналіз проводили з використанням клітинних ліній, стабільно експресуючих hT2R8 й hT2R14, і автоматичного детектора флуоресценції FLIPR.

[0082] На Фіг. 3 представлена крива інгібування активності hT2R8 у відсотках залежно від логарифма концентрації речовини, що демонструє залежності інгібування від дози для Сполук А й В у клітинній лінії, стабільно експресуючій hT2R8.

[0083] На Фіг. 4 представлена крива залежності інгібування активності hT2R14 у відсотках від логарифма концентрації Сполуки С, що демонструє залежності інгібування від дози для Сполуки С у клітинній лінії, стабільно експресуючій hT2R14.

[0084] Фіг. 5 демонструє інгібуючу активність Сполуки С для різних (2) смакових рецепторів людини.

[0085] На Фіг. 6 представлена крива залежності рецепторної активності від логарифма концентрації сахарину. На Фіг. 6 показані співвідношення доза-відгук; і вплив сахарину на активність рецепторів у трансфікованих клітинах, експресуючих варіанти hT2R43, hT2R44 й hT2R8. Відповідь hT2R8 на сахарин більш слабка в аналізах *in vitro*, ніж в алелях "дегустаторів" hT2R43-W35 й hT2R44-W35, але він сильніше, ніж в алелях "недегустаторів" hT2R43-S35 й hT2R44-R35.

Детальний опис винаходу

[0086] Відповідно до даного винаходу, сполуки згідно із даним винаходом можуть бути використані для пом'якшення або зменшення гіркого смаку композицій, наприклад, композиції для прийому всередину. У даному описі термін "композиція для прийому всередину" включає будь-яку речовину, призначену для перорального вживання або окремо, або разом з іншою речовиною. Композиція для прийому всередину включає як "продукти харчування або напої", так й "нехарчові продукти". Під терміном "продукти харчування або напої" розуміють будь-який харчовий продукт, призначений для споживання людьми або тваринами, включаючи тверді речовини, напівтверді речовини або рідини (наприклад, напої). Термін "нехарчові продукти" або "неїстівна композиція" включає добавки, нутріцевтики, функціональні продукти харчування (наприклад, будь-які свіжі або піддані технологічній обробці продукти, які заявляються такими, що мають властивості, що сприяють зміцненню здоров'я та/або властивості попереджати захворювання окрім основної живильної функції постачати живильними речовинами), фармацевтичні й лікарські засоби, що відпускаються без рецепта, продукти для догляду за порожниною рота, такі як засоби для чищення зубів й рідини для полоскання рота, косметичні продукти, такі як бальзами для губ, та інші засоби особистої гігієни.

[0087] Композиція для прийому всередину також включає фармацевтичну, лікарську або їстівну композицію, або як альтернативу склад, наприклад, фармацевтичний або лікарський склад, або продукт харчування, або напій, або склад.

[0088] Сполуки згідно із даним винаходом можуть бути також запропоновані окремо або в комбінації з будь-якою відомою або пізніше відкритою композицією для прийому всередину. Наприклад, композиція для прийому всередину може являти собою їстівну або неїстівну композицію. Під терміном "їстівна композиція" розуміють будь-яку композицію, яка може бути вжита як їжа людьми або тваринами, включаючи тверді речовини, гель, пасту, пінисту речовину, напівтверді речовини, рідини або суміші зазначених речовин. Під терміном "неїстівна композиція" розуміють будь-яку композицію, яка призначена для вживання або використання людьми або тваринами не як їжа, включаючи тверді речовини, гель, пасту, пінисту речовину, напівтверді речовини, рідини або суміші зазначених речовин. Неїстівна композиція включає, без обмеження, лікарську композицію, яка відноситься до неїстівної композиції, призначеної для використання людьми або тваринами для лікувальних цілей. Термін "тварина" включає будь-яку тварину за винятком людини, як наприклад, сільськогосподарські тварини й свійські тварини.

[0089] В одному з варіантів реалізації сполуки згідно із даним винаходом можуть бути додані до неїстівної композиції або нехарчового продукту, такого як добавки, нутріцевтики, функціональні продукти харчування (наприклад, будь-які свіжі або піддані технологічній обробці продукти, що заявляються такими, що мають властивості, які сприяють зміцненню здоров'я

та/або властивості попереджати захворювання окрім основної живильної функції постачати живильними речовинами), фармацевтичні й лікарські засоби, що відпускають без рецепта, продукти для догляду за порожниною рота, такі як засоби для чищення зубів й рідини для полоскання рота, косметичні продукти, такі як бальзами для губ, та інші засоби особистої гігієни.

5 [0090] У цілому, продукт, що відпускається без рецепта (ОТС) і продукт для гігієни порожнини рота, як правило, відносяться до продукту для домашнього та/або особистого використання, який може бути проданий без рецепта та/або без відвідування лікаря. Приклади продуктів, що відпускаються без рецепта, включають, без обмеження, Вітаміни й харчові добавки; Місцеві знеболюючі засоби та/або анестетик; Засоби від кашлю, застуди й алергії; 10 Антигістамінні засоби та/або засоби від алергії; і комбінації зазначених речовин. Вітаміни й харчові добавки включають, без обмеження, вітаміни, харчові добавки, тонізуючі напої/бутильовані живильні напої, вітаміни для дітей, харчові добавки, будь-які інші продукти, що забезпечують живильними речовинами або відносяться до них, і комбінації зазначених продуктів. Місцеві знеболюючі засоби та/або анестетик включають будь-які креми/мазі/гелі для 15 місцевого застосування, використовувані для зменшення поверхневого або глибоко розташованого болю, наприклад, м'язового болю; гель для знеболювання при прорізуванні зубів; пластири зі знеболюючим компонентом; і комбінації зазначених речовин. Засоби від кашлю, застуди й алергії включають, без обмеження, засоби проти набряку, засоби від кашлю, фарингеальні лікарські засоби, лікувальні кондитерські вироби, антигістамінні засоби й засоби 20 від кашлю, застуди й алергії для дітей; і комбіновані продукти. Антигістамінні засоби та/або засоби від алергії включають, без обмеження, будь-які системні лікарські засоби від сінної лихоманки, видів алергійного риніту, укусів комах. Приклади засобів для гігієни порожнини рота включають, без обмеження, смужки для чищення рота, зубну пасту, зубні щітки, еліксири для порожнини рота/зубні еліксири, догляд за протезами, освіжувачі для рота, засоби для 25 відбілювання зубів для використання в домашніх умовах і зубну нитку.

[0091] В іншому варіанті реалізації сполуки згідно із даним винаходом можуть бути додані до продуктів харчування і напоїв або складів. Приклади продуктів харчування і напоїв або складів включають, без обмеження, покриття, глазур і глазировки для їстівних продуктів і будь-яку речовину, включену в категорію супів, категорію сухих технологічно оброблених продуктів, 30 категорію напоїв, категорію готових блюд, категорію банкових або консервованих продуктів, категорію заморожених технологічно оброблених продуктів, категорію охолоджених технологічно оброблених продуктів, категорію закусок, категорію хлібобулочних виробів, категорію кондитерських виробів, категорію молочних продуктів, категорію морозива, категорію заміників їжі, категорію макаронних виробів і локшини та категорію соусів, заправленнь, 35 приправ, категорію продуктів дитячого харчування та/або категорію паст.

[0092] У цілому, категорія супів відноситься до банкового/консервованого, сухого, швидкого приготування, охолодженого, УВТ-обробленого й замороженого супу. Для мети даного визначення, "суп (супи)" означає продукт харчування, приготований з м'яса, м'яса птаха, риби, 40 овочів, зернових культур, фруктів й інших інгредієнтів, приготований у рідині, яка може містити видимі шматки деяких або всіх зазначених інгредієнтів. Він може бути прозорим (як бульйон) або густим (як густа юшка), однорідним, пюреподібним або містити шматочки, готовим до вживання, напівзгущеним або згущеним і може бути поданий у гарячому або холодному виді, як перше блюдо або основне блюдо, або як проміжна закуска (що випивається як напій). Суп може бути використаний як інгредієнт для приготування інших компонентів їжі й може варіюватися від 45 бульйонів (консоми) до соусів (вершкові або сирні супи).

[0093] Термін "категорія сухих продуктів кулінарії" зазвичай означає: (i) Допоміжні продукти для приготування, такі як порошки, гранули, пасти, концентровані рідкі продукти, включаючи концентрований бульйон, бульйон і бульйоноподібні продукти в пресованих кубиках, таблетках або порошкоподібній, або гранульованій формі, які продаються окремо у виді готового продукту 50 або інгредієнта в продукті, соусах і рецептурних сумішах (поза залежністю від технології); (ii) Розчинні продукти харчування такі як: сухі супи й супи сублімаційного сушіння, включаючи сухі супові суміші, сухі супи швидкого приготування, сухі супи – напівфабрикати, сухі або не заморожені склади готових до вживання блюд, блюда й закуски на одну порцію, включаючи макаронні вироби, картопляні й рисові блюда; і (iii) Продукти для прикрашання блюд, такі як: 55 приправи, маринади, заправлення до салатів, топпінги до салатів, соуси для мочання, панірувальна хлібна крихта, збиті білкові суміші для панірування, пасти довгого зберігання, соуси для барбекю, рідкі рецептурні суміші, концентрати, соуси або суміші соусів, включаючи для салатів, що продаються у виді готового продукту або інгредієнта в продукті, сухі, або рідкі, або заморожені.

60 [0094] Категорія напоїв зазвичай означає напої, суміші й концентрати напоїв, включаючи,

без обмеження, газовані й негазовані напої, алкогольні й безалкогольні напої, готові до вживання напої, рідкі концентровані склади для приготування напоїв, таких як содова вода, і сухі порошкоподібні суміші-попередники напоїв. Категорія напоїв також включає алкогольні напої, безалкогольні напої, спортивні напої, ізотонічні напої й гарячі напої. Алкогольні напої включають, без обмеження, пиво, сидр/перрі, ароматизовані алкогольні напої (FABs), вино й спиртні напої. Безалкогольні напої включають, без обмеження, газовані напої, такі як коли й газовані напої не на основі коли; фруктові соки, такі як соки, нектари, соковмісні напої й напої зі смаком фруктів; бутильовану воду, яка включає шипучу воду, джерельну воду й очищену/столову воду; функціональні напої, які можуть бути газованими або негазованими, і включають енергетичні напої або еліксири; концентрати, такі як рідкі й порошкоподібні концентрати в готовому до вживання дозуванні. Гарячі напої включають, без обмеження, каву, таку як свіжу (наприклад, зварену), розчинну, комбіновану каву, рідкі, готові до вживання, розчинні й сухі кавові напої, суміші й концентрати кавових напоїв (сиropи, у чистому виді, у складі або в порошкоподібній формі; приклад "порошкоподібної форми" являє собою продукт, що містить каву, підсолоджувач й освітлювач, усе в порошкоподібній формі); чай, такий як чорний, зелений, білий, оолонг й ароматизований чай; та інші гарячі напої, включаючи ароматизовані, солодові або рослинні порошки, гранули, кубики або таблетки, змішані з молоком або водою.

[0095] Категорія закусок у цілому відноситься до будь-якого продукту харчування, який може являти собою легку неформальну їжу, включаючи, без обмеження, солодкі й солоні закуски та батончики. Приклади закусок включають, без обмеження, фруктові закуски, чіпси/кріспи, екструдовані закуски, маїсові/кукурудзяні чіпси, попкорн, солоні крендельки, горіхи й інші солодкі й солоні закуски. Приклади батончиків включають, без обмеження, батончики із граноли/мюслі, батончики для сніданку, енергетичні батончики, фруктові батончики й інші батончики.

[0096] Категорія хлібобулочних виробів у цілому відноситься до будь-якого харчового продукту, спосіб приготування якого включає піддавання нагріванню або надлишковому сонячному світлу. Приклади хлібобулочних виробів включають, без обмеження, хліб, здобні булочки, печиво, мафіни, блюдо із зернових продуктів, хлібні кондитерські вироби, кондитерські вироби, вафлі, тортільї, сухе печиво, пироги, бублики, тарталетки, пироги із заварним кремом і різною начинкою, торт, будь-які печені вироби й будь-які комбінації зазначених виробів.

[0097] Категорія морозива в цілому відноситься до замороженого десерту, що містить вершки і цукор, та ароматизатор. Приклади морозива включають, без обмеження: імпульсне морозиво; морозиво для вживання вдома; заморожений йогурт і домашнє морозиво; соєве, вівсяне, бобове (наприклад, із червоних бобів і бобів мунг) та рисове морозиво.

[0098] Категорія кондитерських виробів у цілому відноситься до харчового продукту, солодкого на смак. Приклади кондитерських виробів включають, без обмеження, цукерки, желе, шоколадні кондитерські вироби, кондитерські вироби із цукру, жувальну гумку тощо, і будь-які комбіновані продукти.

[0099] Категорія заміників їжі в цілому відноситься до будь-якого продукту харчування, призначеного для заміни звичайних блюд, зокрема для людей, що піклуються про здоров'я і зовнішню форму. Приклади заміників їжі включають, без обмеження, продукти для схуднення і оздоровлюючі продукти.

[0100] Категорія готових блюд у цілому відноситься до будь-якого продукту харчування, який може служити як їжа без тривалого приготування або обробки. Готові блюда включають продукти, які містять додані виробником рецептурні "включення", що приводять до високого ступеня готовності, завершеності й зручності. Приклади готових блюд включають, без обмеження банкові/консервовані, заморожені, охолоджені готові блюда; обідні суміші; заморожену піцу; охолоджену піцу; і приготовані салати.

[0101] Категорія макаронних виробів і локшини включає будь-які макаронні вироби та/або локшину, включаючи, без обмеження, консервовані макаронні вироби, сухі й охолоджені/свіжі макаронні вироби; і просту, розчинну, охолоджену, заморожену локшину й закусочну локшину.

[0102] Категорія банкових/консервованих продуктів харчування включає, без обмеження, банкове/консервоване м'ясо й м'ясні продукти, рибу/морепродукти, овочі, томати, боби, фрукти, готові блюда, суп, макаронні вироби й інші банкові/консервовані продукти харчування.

[0103] Категорія заморожених продуктів харчування, підданих технологічній обробці, включає, без обмеження, заморожене технологічно оброблене червоне м'ясо, технологічно оброблене м'ясо птаха, технологічно оброблену рибу/морепродукти, технологічно оброблені овочі, замітники м'яса, технологічно оброблену картоплю, хлібобулочні вироби, десерти, готові блюда, піцу, суп, локшину й інші заморожені продукти харчування.

[0104] Категорія сухих продуктів харчування, підданих технологічній обробці, включає, без

обмеження, рис, десертні суміші, сухі готові блюда, сухий суп, суп швидкого приготування, сухі макаронні вироби, просту локшину й локшину швидкого приготування.

[0105] Категорія охолоджених продуктів харчування, підданих технологічній обробці, включає, без обмеження, охолоджене технологічно оброблене м'ясо, технологічно оброблену рибу/морепродукти, набори для обіду, свіженарізані фрукти, готові блюда, піцу, приготовані салати, суп, свіжі макаронні вироби й локшину.

[0106] Категорія соусів, заправок і приправ включає, без обмеження, томатні пасти й пюре, бульйон/бульйонні кубики, трави й спеції, глутамат натрію (MSG), столові соуси, соєві соуси, соуси для макаронних виробів, вологі/кулінарні соуси, сухі соуси/порошкоподібні суміші, кетчуп, майонез, гірчицю, заправки до салатів, заправки з оцтом, соуси для мочання, соління й інші соуси, заправки й приправи.

[0107] Категорія продуктів дитячого харчування включає, без обмеження, молочну або соєву суміш; і приготовані, сухі й інші продукти дитячого харчування.

[0108] Категорія паст включає, без обмеження, джеми й варення, мед, шоколадні пасти, горіхові пасти й дріжджові пасти.

[0109] Категорія молочних продуктів у цілому відноситься до харчового продукту, виготовленого з молока ссавця. Приклади молочних продуктів включають, без обмеження, питні молочні продукти, сир, йогурт і кисломолочні напої й інші молочні продукти.

[0110] Додаткові приклади їстівної композиції, зокрема продукти харчування й напої або склади представлені наступним чином. Типові їстівні композиції включають один або декілька кондитерських виробів, шоколадні кондитерські вироби, плитки, продукцію, призначену для споживання "на ходу", цукерки з м'якою або твердою начинкою в пакетах, асорті в коробках, стандартні асорті в коробках, цукерки із закладенням торців "вперекрутку", сезонний шоколад, шоколад з іграшками, альфакорес (аргентинське печиво), інші шоколадні кондитерські вироби, м'ятні цукерки, стандартні м'ятні цукерки, сильні м'ятні цукерки, льодяникову карамель, пастилу, жувальні гумки, желейні цукерки й жувальні цукерки, ірис, карамель і нугу, лікувальні кондитерські вироби, льодяники на паличці, лакричні цукерки й інші кондитерські вироби із цукру, жувальну гумку, жувальну гумку із цукром, жувальну гумку без цукру, функціональну жувальну гумку, надувну жувальну гумку, хліб, упакований/заводський хліб, не упакований/домашній хліб, борошняні кондитерські вироби, торти, упаковані/заводські торти, не упаковані/домашні торти, печиво, глазуроване шоколадом печиво, слоїсте печиво, печиво з начинкою, солоне печиво й крекери, замітники хліба, зернові суміші для сніданку, готові до вживання зернові суміші, зернові суміші для сніданку для всієї родини, пластівці, мюслі, інші зернові суміші, зернові суміші для сніданку для дітей, гарячі зернові суміші, імпульсне морозиво, молочне морозиво на одну порцію, морозиво на основі води на одну порцію, молочне морозиво в мультипаку, морозиво на основі води в мультипаку, морозиво для вживання вдома, молочне морозиво для вживання вдома на основі води, заморожений йогурт, домашнє морозиво, молочні продукти, молоко, свіже/пастеризоване молоко, повножирне свіже/пастеризоване молоко, напівзнежирене свіже/пастеризоване молоко, молоко із тривалим строком зберігання/молоко УВТ, повножирне молоко із тривалим строком зберігання/молоко УВТ, напівзнежирене молоко із тривалим строком зберігання/молоко УВТ, знежирене молоко із тривалим строком зберігання/молоко УВТ, козяче молоко, згущене/згущене стерилізоване молоко, просте згущене молоко/згущене стерилізоване молоко, ароматизоване, функціональне й інше згущене молоко, ароматизовані молочні напої, ароматизовані молочні напої тільки на основі молока, ароматизовані молочні напої із фруктовим соком, соєве молоко, кисломолочні напої, поквашені молочні напої, освітлювачі кави (наприклад, молочні й немолочні вершки або освітлювачі для кавових напоїв), порошок молока, ароматизовані порошкові молочні напої, вершки, сир, плавлений сир, пастоподібний плавлений сир, непастоподібний плавлений сир, неплавлений сир, пастоподібний неплавлений сир, твердий сир, упакований твердий сир, не упакований твердий сир, йогурт, простий/натуральний йогурт, ароматизований йогурт, фруктовий йогурт, пробіотичний йогурт, питний йогурт, звичайний питний йогурт, пробіотичний питний йогурт, охолоджені десерти й десерти довгого строку зберігання, молочні десерти, соєві десерти, охолоджені закуски, м'який сир і сир низької жирності, простий м'який сир і сир низької жирності, ароматизований м'який сир і сир низької жирності, солоний м'який сир і сир низької жирності, солодкі й солоні закуски, фруктові закуски, чіпси/кріспи, екструдовані закуски, маїсові/кукурудзяні чіпси, попкорн, кренделики, горіхи, інші солодкі й солоні закуски, батончики, батончики із граноли, батончики для сніданку, енергетичні батончики, фруктові батончики, інші батончики, замітники їжі, продукти для схуднення, оздоровлюючі напої, готові блюда, банкові готові блюда, заморожені готові блюда, сухі готові блюда, охолоджені готові блюда, обідні

суміші, заморожену піцу, охолоджену піцу, суп, супові консерви, сухий суп, суп швидкого приготування, охолоджений суп, гарячий суп, заморожений суп, макаронні вироби, консервовані макаронні вироби, сухі макаронні вироби, охолоджені/свіжі макаронні вироби, локшину, просту локшину, локшину швидкого приготування, локшину швидкого приготування в чашках/мисках, локшину швидкого приготування в пакетах, охолоджену локшину, закусочну локшину, консерви, м'ясо і м'ясні продукти, консервовану рибу/морепродукти, консервовані овочі, консервовані томати, консервовані боби, консервовані фрукти, консервовані готові блюда, супові консерви, консервовані макаронні вироби, інші консервовані продукти, заморожені продукти, заморожене технологічно оброблене червоне м'ясо, заморожене технологічно оброблене м'ясо птаха, заморожену технологічно оброблену рибу/морепродукти, заморожені технологічно оброблені овочі, заморожені замітники м'яса, заморожену картоплю, запечені картопляні чіпси, інші запечені картопляні продукти, не запечену заморожену картоплю, заморожені хлібобулочні вироби, заморожені десерти, заморожені готові блюда, заморожену піцу, заморожений суп, заморожену локшину, інші заморожені продукти, сухі продукти, десертні суміші, сухі готові блюда, сухий суп, суп швидкого приготування, сухі макаронні вироби, просту локшину, локшину швидкого приготування, локшину швидкого приготування в чашках/мисках, локшину швидкого приготування в пакетах, охолоджені продукти, охолоджене технологічно оброблене м'ясо, охолоджену технологічно оброблену рибу/морепродукти, охолоджену технологічно оброблену рибу, охолоджену глазуровану рибу, охолоджену копчену рибу, охолоджений набір для обіду, охолоджені готові блюда, охолоджену піцу, охолоджений суп, охолоджені/свіжі макаронні вироби, охолоджену локшину, олії й жири, маслинову олію, рослинну олію й олію з насіння, кулінарні жири, масло, маргарин, пастоподібні масла й жири, функціональні пастоподібні масла й жири, соуси, заправки й приправи, томатні пасти й пюре, бульйон/бульйонні кубики, бульйонні кубики, підливу в гранулах, рідкі бульйони й основи, трави й спеції, ферментовані соуси, соєві соуси, соуси для макаронних виробів, вологі соуси, сухі соуси/порошкоподібні суміші, кетчуп, майонез, звичайний майонез, гірчицю, заправки до салатів, звичайні заправки до салатів, маложирні заправки до салатів, заправки з оцтом, соуси для мочання, соління, інші соуси, заправки й приправи, продукти дитячого харчування, молочну суміш, стандартну молочну суміш, молочну суміш для дітей старше року, молочну суміш для дітей що починають ходити, гіпоалергенну молочну суміш, приготовані продукти дитячого харчування, сухі продукти дитячого харчування, інші продукти дитячого харчування, пасти, джеми й варення, мед, шоколадні пасти, горіхові пасти й дріжджові пасти. Типові їстівні композиції також включають кондитерські вироби, хлібобулочні вироби, морозиво, молочні продукти, солодкі й солоні закуски, батончики, замітники їжі, готові блюда, супи, макаронні вироби, локшину, консервовані продукти, заморожені продукти, сухі продукти, охолоджені продукти, олії й жири, продукти дитячого харчування або пасти, або суміші зазначених продуктів. Типові їстівні композиції також включають зернові суміші для сніданку, солодкі напої або тверді, або рідкі концентровані композиції для приготування напоїв. Типові їстівні композиції також включають ароматизовані кавові продукти (наприклад, морозиво зі смаком кави).

[0111] Як правило, кількість, достатню для пом'якшення або зменшення гіркого смаку, пов'язаного з композицією, наприклад, композицією для прийому всередину, додають до композиції, у результаті чого відбувається пом'якшення або зменшення гіркого смаку, пов'язаного із зазначеною композицією в порівнянні з композиціями, одержаними без сполук згідно із даним винаходом, орієнтуючись на людей або тварин. Або, у випадку проведення тестування складів орієнтуючись на більшість групи, наприклад, восьми дегустаторів (людей), за допомогою процедур, загальновідомих у даній галузі.

[0112] Концентрація сполук згідно із даним винаходом, ефективна для пом'якшення або зменшення гіркого смаку, пов'язаного з композицією, звичайно, буде залежати від багатьох факторів, включаючи конкретний тип їстівної композиції й різних інших компонентів, природну генетичну мінливість та індивідуальні переваги й стани здоров'я різних людей, що пробують композиції, і суб'єктивна дія певної сполуки на смак таких хемосенсорних сполук. У деяких варіантах реалізації концентрація сполук згідно із даним винаходом, ефективна для пом'якшення або зменшення гіркого смаку, пов'язаного з композицією, становить від приблизно 0.001 ppm до приблизно 100 ppm, наприклад, від приблизно 0.1 ppm до приблизно 100 ppm, від приблизно 1 ppm до приблизно 25 ppm, від приблизно 1 ppm до приблизно 10 ppm, від приблизно 0.1 ppm до приблизно 10 ppm, від приблизно 0.01 ppm до приблизно 30 ppm, від приблизно 0.05 ppm до приблизно 10 ppm, від приблизно 0.01 ppm до приблизно 5 ppm, від приблизно 0.02 ppm до приблизно 2 ppm або від приблизно 0.01 ppm до приблизно 1 ppm.

[0113] У деяких варіантах реалізації даного винаходу передбачено, що суміш однієї або декількох сполук згідно із даним винаходом буде використана для пом'якшення або зменшення

гіркого смаку, пов'язаного з композицією. Концентрація однієї або декількох сполук може бути однаковою або концентрація кожної сполуки може бути різною.

[0114] Перед подальшим описом даного винаходу запропоновані наступні визначення.

[0115] Термін "родина T2R" включає поліморфні варіанти, алелі, мутанти й гомологи, які: (1) мають приблизно 30-40 % ідентичності амінокислотних послідовностей, зокрема приблизно 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 або 99 % ідентичності амінокислотних послідовностей з рецепторами T2R, описаними нижче та у заявках Zuker (Id) (2001) і Adler (Id.) (2001), включених у даний опис за допомогою посилання, на ділянці приблизно у 25 амінокислот, оптимально 50-100 амінокислот; (2) специфічно зв'язуються з антитілами, вирощеними до імунотопу, що містить амінокислотну послідовність, обрану з групи, що включає послідовності T2R, описані нижче, і консервативно модифіковані варіанти зазначених послідовностей; (3) специфічно гібридизуються (з розміром щонайменше 100, можливо, щонайменше близько 500-1000 нуклеотидів) у жорстких умовах гібридизації в послідовність, обрану із групи, що включає послідовності ДНК T2R, описані нижче, і консервативно модифіковані варіанти зазначених послідовностей; (4) містять послідовність, щонайменше на 40 % ідентичну амінокислотній послідовності, обраній із групи, що включає амінокислотні послідовності T2R, описані нижче або (5) ампліфіковані праймерами, які специфічно гібридизуються в жорстких умовах гібридизації в описаній послідовності T2R.

[0116] Зокрема, зазначені рецептори "T2R" включають GPCRs смакових рецепторів, позначувані в даному описі hT2R8 й hT2R14, що містять послідовності нуклеїнових кислот і амінокислотні послідовності, запропоновані в даній заявці, та варіанти, алелі, мутанти, ортологи й химери зазначених послідовностей, які специфічно зв'язуються з гіркими лігандами, ідентифікованими в даному описі та іншими структурно родинними сполуками й гіркими сполуками.

[0117] У той час як гени T2R мають значну дивергенцію послідовностей як на рівні білків, так і на рівні ДНК, було виявлено, що всі T2R, виділені на сьогоднішній день, містять деякі консенсусні послідовності в певних областях, які ідентичні або мають 70-75 % ідентичності послідовностей з консенсусною послідовністю T2R, раніше ідентифікованою в Adler et al (WO 01/77676 A1 (2001) і Zuker et al. WO 01/18050 A2, обоє з яких повністю включені в даний опис за допомогою посилання.

[0118] Топологічно, деякі хемосенсорні GPCRs містять "N-термінальний домен", "позаклітинні домени", "трансмембранний домен", що містить сім трансмембранних областей і відповідні цитоплазматичні й позаклітинні петлі, "цитоплазматичні області" й "C-термінальну область" (див., наприклад, Hoop et al, Cell, 96:541-51 (1999); Buck & Axel, Cell, 65:175-87 (1991)). Зазначені області можуть бути структурно ідентифіковані за допомогою способів, відомих фахівцям у даній галузі техніки, таких як програми для секвенування, які ідентифікують гідрофобні й гідрофільні домени (див., наприклад, Stryer, Biochemistry, (3rd ed. 1988); див. також будь-які з ряду Internet програм для секвенування, такі як на сайті dot.imgen.bcm.tmc.edu). Зазначені області підходять для створення химерних білків і для аналізів in vitro згідно із даним винаходом, наприклад, аналізів зв'язування лігандів. Наприклад, химерні T2R можуть бути одержані шляхом комбінування позаклітинної області одного T2R і трансмембранної області іншого T2R одного або різних видів.

[0119] Отже, термін "позаклітинні області" відноситься до доменів поліпептидів T2R, які виступають із клітинної мембрани й звернені до зовнішньої сторони клітини. Такі області будуть включати "N-термінальний домен", який звернений до зовнішньої сторони клітини, а також позаклітинні петлі трансмембранного домену, які звернені до зовнішньої сторони клітини, тобто позаклітинні петлі між трансмембранними областями 2 й 3, трансмембранними областями 4 й 5 і трансмембранними областями 6 й 7. "N-термінальний домен" починається на N-терміналі й простягається до області, близької до початку трансмембранної області. Зазначені позаклітинні області підходять для аналізів зв'язування лігандів in vitro, як розчинної, так і твердої фази. Крім того, трансмембранні області, описані нижче, також можуть бути включені у зв'язування лігандів або в комбінації з позаклітинною областю, або окремо, а, отже, також підходять для аналізів зв'язування лігандів in vitro.

[0120] У даному описі термін "клітина, що експресує T2R" включає рекомбінантні клітини, які експресують послідовність T2R людини згідно із даним винаходом, а також ендogenous клітини, що експресують T2R. Такі клітини містяться в лінгвальній системі і шлунково-кишковому тракті й включають клітини в ротовій порожнині, такі як смакові сосочки, експресовані на язичку, а також клітини в шлунково-кишковому тракті й суміжних органах, такі як щіткові клітини в шлунково-кишковому тракті, ентероендокринні клітини, такі як клітини STC-1. Зазначені клітини також можуть експресувати G-білок, такий як густдучин, трансдучин, Gα15 або Gα16. Клітини, які

експресують конкретні T2R, можуть бути ідентифіковані й виділені відомими способами, як наприклад, шляхом сепарації клітин методом FACS та/або за допомогою процедур по виділенню клітин з використанням магнітних мікроносіїв.

[0121] "Трансмембранний домен", що містить сім трансмембранних "областей", відноситься до домену поліпептидів T2R, який знаходиться всередині клітинної мембрани, і може також включати відповідні цитоплазматичні (внутрішньоклітинні) і позаклітинні петлі, що також називаються трансмембранними "областями". Сім трансмембранних областей і позаклітинні й цитоплазматичні петлі можуть бути ідентифіковані стандартними способами, описаними в Kyte & Doolittle, J. Mol. Biol., 157:105-32 (1982)) або в Stryer, вище.

[0122] Термін "цитоплазматичні домени" відносяться до доменів білків T2R, які звернені до внутрішньої сторони клітини, наприклад, "С-термінальний домен" і внутрішньоклітинних петель трансмембранного домена, наприклад, внутрішньоклітинних петель між трансмембранними областями 1 й 2, трансмембранними областями 3 й 4 і трансмембранними областями 5 й 6. Термін "С-термінальний домен" відноситься до області, яка триває від кінця останньої трансмембранної області до С-термінала білка і яка, як правило, розташована в цитоплазмі.

[0123] Термін "7-трансмембранний рецептор" означає поліпептид, що відноситься до суперродини трансмембранних білків, які містять сім областей, що охоплюють клітинну мембрану сім разів (таким чином, сім областей називаються "трансмембранними" або доменами "TM" TM I-TM VII). Родини нюхових і деяких смакових рецепторів відносяться до даної суперродини. Поліпептиди 7-трансмембранного рецептора мають схожі й характерні первинні, вторинні й третинні структури, розглянуті детальніше нижче.

[0124] Термін "область зв'язування ліганду" відноситься до послідовностей, одержаних з хемосенсорного або смакового рецептора, які, власне кажучи, включають трансмембранні домени II-VII (TM II-VII). Зазначена область може зв'язувати ліганд, і зокрема сполуку, що викликає смак.

[0125] Термін "транслокаційний домен клітинної мембрани" або просто "транслокаційний домен" означає домен поліпептиду, який при включенні в амінотермінал послідовності, що кодує поліпептид, може з високою ефективністю "супроводжувати (бути шапероном)" або "транслокувати" гібридний ("химерний") білок у клітинну мембрану. Наприклад, може бути використаний конкретний "транслокаційний домен", вперше одержаний з амінотермінала поліпептиду родопсинового рецептора людини, 7-трансмембранний рецептор. Інший транслокаційний домен був одержаний з послідовності бичачого родопсину й також підходить для полегшення транслокації. Одержані з родопсину послідовності, зокрема ефективні в транслокації 7-трансмембранних гібридних білків у клітинну мембрану.

[0126] Термін "функціональна еквівалентність" означає здатність й ефективність домену в транслокації нових трансльованих білків у клітинну мембрану так само ефективно, як типовий транслокаційний домен, такий як домен, одержаний з родопсину в схожих умовах; відносна ефективність може бути обмірювана (у кількісному вираженні) і порівняна як зазначено в даному описі. Домени, що входять в об'єм даного винаходу, можуть бути визначені шляхом стандартного скринінгу їх ефективності в транслокації новосинтезованих поліпептидів у клітинну мембрану в клітині (савця, Ксенопус (Xenopus) тощо) з тією ж ефективністю, що й транслокаційний домен довжиною в 20 амінокислот SEQ ID NO:1.

[0127] Термін "функціональні ефекти" у контексті аналізів на тестування сполук, що модулюють передачу смаку, опосередковану членом родини T2R, включає визначення будь-якого параметра, який опосередковано або напряду знаходиться під впливом рецептора, наприклад, функціональних, фізичних і хімічних ефектів. Він включає зв'язування ліганди, зміни іонного потоку, мембранний потенціал, протікання струму, транскрипцію, зв'язування з G-білком, фосфорилування або дефосфорилування GPCR, передачу сигналів, взаємодії рецептор-ліганд, концентрації вторинного месенджера (наприклад, цАМФ, цГМФ, IP3 або внутрішньоклітинного Ca²⁺), in vitro, in vivo й ex vivo, а також включає інші фізіологічні ефекти, такі як збільшення або зменшення вивільнення нейромедіаторів або гормонів.

[0128] Під терміном "визначення функціонального ефекту" розуміють аналізи на наявність сполуки, яка збільшує або зменшує параметр, опосередковано або напряду знаходиться під впливом члена родини T2R, наприклад, функціональні, фізичні й хімічні ефекти. Такі функціональні ефекти можуть бути виміряні будь-якими способами, відомими фахівцям у даній галузі техніки, наприклад, зміни спектроскопічних характеристик (наприклад, флуоресценції, поглинання, показника переломлення), гідродинамічних (наприклад, форми), хроматографічних властивостей або розчинності, фіксація потенціалу, потенціалочуттєві барвники, цільноклітинні потоки, радіоізотопний відтік, індуковані маркери, експресія гена T2R в ооцитах; експресія T2R клітин культури тканини; транскрипційна активація генів T2R; аналізи зв'язування ліганди; зміни

напруги, мембранного потенціалу й провідності; аналізу іонного потоку; зміни внутрішньоклітинних вторинних месенджерів, таких як цАМФ, цГМФ та інозиттрифосфат (IP3); зміни внутрішньоклітинних рівнів кальцію; вивільнення нейромедіаторів тощо.

[0129] Терміни "інгібітори", "активатори" й "модулятори" білкових рецепторів T2R є взаємозамінними для позначення інгібуючих, активуючих або модулюючих молекул, ідентифікованих за допомогою аналізів *in vitro* й *in vivo* на предмет передачі смаку, наприклад, лігандів, агоністів, антагоністів та їх гомологів і міметиків. Інгібітори являють собою сполуки, які, наприклад, зв'язуються, частково або повністю блокують стимуляцію, зменшують, попереджають, відстрочують активацію, інактивують, десенсибілізують або придушують передачу смаку, наприклад, агоністи. Активатори являють собою сполуки, які, наприклад, зв'язуються, стимулюють, збільшують, починають, полегшують, підсилюють активацію, сенсибілізують або активують передачу смаку, наприклад, агоністи. Модулятори включають сполуки, які, наприклад, змінюють взаємодію рецептора з позаклітинними білками, які зв'язуються з активаторами або інгібітором (наприклад, ебнерин та інші члени родини гідрофобних носіїв); G-білки; кінази (наприклад, гомологи родопсінкінази й кіназ бета-адренергічних рецепторів, залучені в дезактивацію і десенсибілізацію рецептора); та арестини, які також дезактивують і десенсибілізують рецептори. Модулятори включають генетично модифіковані варіанти членів родини T2R, наприклад, зі зміненою активністю, а також зустрічаються в природі і синтетичні ліганди, антагоністи, агоністи, невеликі хімічні молекули тощо.

[0130] Такі аналізи на наявність інгібіторів і активаторів включають, наприклад, здійснення експресії членів родини T2R у клітинах або клітинних мембранах, застосування передбачуваних сполук, які модулюють, у присутності або відсутності сполук, наприклад, модулювання гірких сполук, а потім визначення функціональних ефектів на передачу смаку, як описано вище. Зразки або аналізи, що містять членів родини T2R, на які діють потенційним активатором, інгібітором або модулятором, порівнюють із контрольними зразками без інгібітору, активатора або модулятора, у результаті чого досліджують ступінь модуляції. Контрольним зразкам (не підданим дії модуляторів) призначають величину відносної активності T2R, що дорівнює 100 %. Інгібування T2R здійснюють коли величина активності T2R щодо контролю становить близько 80 %, можливо 50 % або 25-0 %. Активацію T2R здійснюють коли величина активності T2R щодо контролю становить 110 %, можливо 150 %, можливо 200-500 % або вище 1000-3000 %.

[0131] У даному описі терміни "очищений", "по суті очищений" й "виділений" відносяться до стану відсутності інших, відмітних сполук, з якими сполука згідно із даним винаходом, як правило, зв'язана в природному стані. Переважно, терміни "очищений", "по суті очищений" й "виділений" означають, що композиція містить щонайменше 0.5 %, 1 %, 5 %, 10 % або 20 %, а найбільш переважно щонайменше 50 % або 75 % маси, по масі даного зразка. В одному з переважних варіантів реалізації зазначені терміни відносяться до сполуки згідно із даним винаходом, що містить щонайменше 95 % маси, по масі даного зразка. У даному описі, коли терміни "очищений", "по суті очищений" й "виділений" відносяться до нуклеїнової кислоти або білка з нуклеїнових кислот або білків, також означають стан очищення й концентрацію, відмітну від тої, яка зустрічається у природі в організмі ссавця, особливо людини. Будь-який ступінь очищення або концентрація, що більше зустрічається в природі в організмі ссавця, особливо людини, включаючи (1) очищення від інших зв'язаних структур або сполук або (2) зв'язок зі структурами або сполуками, з якими вона, як правило, не зв'язана в організмі ссавця, особливо людини, входить у значення терміна "виділений". Нуклеїнова кислота або білок або класи нуклеїнових кислот або білків, зазначені в даному описі, можуть бути виділені або інакше зв'язані зі структурами або сполуками, з якими вони, як правило, не зв'язані в природі відповідно до ряду способів і процесів, відомих фахівцям у даній галузі техніки.

[0132] У даному описі термін "виділений" відносно до нуклеїнової кислоти або поліпептиду означає стан очищення або концентрацію, відмітну від тої, яка зустрічається в природі в організмі ссавця, особливо людини. Будь-який ступінь очищення або концентрація, що більше зустрічається в природі в організмі, включаючи (1) очищення від інших зв'язаних структур, що зустрічаються в природі, або сполук або (2) зв'язок зі структурами або сполуками, з якими вона, як правило, не зв'язана в організмі, у даному описі входить у значення терміна "виділений". Нуклеїнові кислоти або поліпептиди, зазначені в даному описі, можуть бути виділені або інакше зв'язані зі структурами або сполуками, з якими вони, як правило, не зв'язані в природі відповідно до ряду способів і процесів, відомих фахівцям у даній галузі техніки.

[0133] У даному описі терміни "ампліфікуючий" й "ампліфікація" відносяться до використання будь-якого підходящого способу ампліфікації для одержання або виявлення рекомбінантної або експресованої у природі нуклеїнової кислоти, як описано детальніше нижче. Наприклад, згідно

із даним винаходом запропоновані способи й реагенти (наприклад, специфічні пари олігонуклеотидних праймерів) для ампліфікації (наприклад, шляхом полімеразної ланцюгової реакції, ПЛР) експресованих у природі (наприклад, геномних або мРНК) або рекомбінантних (наприклад, кДНК) нуклеїнових кислот згідно із даним винаходом (наприклад, послідовностей згідно із даним винаходом, що зв'язуються із сполукою, що викликає смак) *in vivo* або *in vitro*.

[0134] Термін "вектор експресії" відноситься до будь-якої системи для рекомбінантної експресії для експресії послідовності нуклеїнової кислоти згідно із даним винаходом *in vitro* або *in vivo*, конститутивно або індуковано в будь-якій клітині, включаючи прокаріотичну, дріжджову, грибову, рослинну клітину, клітину комахи або ссавця. Зазначений термін включає лінійні або кільцеві системи для експресії. Термін включає системи для експресії, які залишаються в епісомальній формі або інтегрують у геном клітини-хазяїна. Системи для експресії можуть бути або не бути здатними до самореплікації, тобто здійснювати тільки тимчасову експресію в клітині. Термін включає рекомбінантні експресійні "касети", що містять тільки мінімальну кількість елементів, необхідних для транскрипції рекомбінантної нуклеїнової кислоти.

[0135] Термін "бібліотека" означає склад, який являє собою суміш різних молекул нуклеїнових кислот або поліпептидів, як наприклад, бібліотека рекомбінантних одержаних сенсорних, зокрема областей зв'язування ліганду смакових рецепторів, одержаних шляхом ампліфікації нуклеїнової кислоти з парами вироджених праймерів або виділений набір векторів, що містять ампліфіковані області зв'язування ліганду, або суміш клітин кожна довільно трансфікована щонайменше одним вектором, який кодує смаковий рецептор.

[0136] Термін "нуклеїнова кислота" або "послідовність нуклеїнової кислоти" відноситься до олігонуклеотиду, дезоксирибонуклеотиду або рибонуклеотиду, або в одноланцюговій, або у двохланцюговій формі. Зазначений термін включає нуклеїнові кислоти, тобто олігонуклеотиди, що містять відомі аналоги природних нуклеотидів. Термін також включає структури, подібні нуклеїновим кислотам, із синтетичними остовами.

[0137] Якщо не зазначене інше, передбачено, що конкретна послідовність нуклеїнової кислоти також включає консервативно модифіковані варіанти зазначеної послідовності (наприклад, заміни вироджених кодонів) і комплементарні послідовності, а також чітко позначену послідовність. Зокрема, заміни вироджених кодонів можуть бути здійснені шляхом одержання, наприклад, послідовностей, у яких третє положення одного або декількох обраних кодонів замінюють на змішану основу та/або залишки дезоксиінозину (Batzer et al., *Nucleic Acid Res.*, 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.*, 260:2605-08 (1985); Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes*, 8:91-98 (1994)). Термін "нуклеїнова кислота" є взаємозамінним з геном, кДНК, мРНК, олігонуклеотидом і полінуклеотидом.

[0138] У даному описі терміни "поліпептид", "пептид" і "білок" є взаємозамінними й відносяться до полімеру з амінокислотних залишків. Зазначені терміни вживають щодо амінокислотних полімерів, у яких один або декілька амінокислотних залишків являє собою штучний хімічний міметик відповідної амінокислоти, що зустрічається в природі, а також до амінокислотних полімерів, що зустрічаються в природі, і не амінокислотного полімеру, що зустрічається в природі.

[0139] У даному описі термін "алкіл", а також інші групи із приставкою "алк", такі як наприклад, алкокси, алканол, алкеніл, алкініл тощо, означає вуглецеві ланцюги, які можуть бути лінійним або розгалуженими, або комбінації зазначених ланцюгів. Приклади алкільних груп включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, втор- і трет-бутіл, пентил, гексил, гептил тощо. Переважні алкільні групи містять 1-4 атома вуглецю. Термін "алкеніл" й інші подібні терміни включають вуглецеві ланцюги, які містять щонайменше один ненасичений зв'язок вуглець-вуглець. Термін "алкініл" та інші подібні терміни включають вуглецеві ланцюги, які містять щонайменше один потрійний зв'язок вуглець-вуглець.

[0140] Термін "циклоалкіл" означає карбоцикли, що не містять гетероатомів, і включає моно-, бі- і трициклічні насичені карбоцикли, а також конденсовані кільцеві системи. Приклади циклоалкілу включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, декагідронафталін, адамантан, інданіл, інденіл, флуореніл, 1,2,3,4-тетрагідронафталін і т.п.

[0141] Термін "арил" означає ароматичний замісник, що являє собою одне кільце або множинні кільця, конденсовані одне з одним. Типові арильні групи включають, без обмеження, фенільну, нафтильну, антраценільну, піридинільну, піразинільну, піримідинільну, триазинільну, тіофенільну, фуранільну, піролілільну, оксазолільну, імідазолільну, триазолільну й тетразолільну групи. Арильні групи, що містять один або декілька гетероатомів (наприклад, піридиніл), часто називаються "гетероарильними групами". При утворенні множинними кільцями щонайменше одне із входних до складу кілець є ароматичним. У деяких варіантах реалізації щонайменше одне із множинних кілець містить гетероатом, таким чином утворюючи арильні групи, що містять

гетероатом. Арильні групи, що містять гетероатом, включають, без обмеження, бензоксазолільну, бензімідазолільну, хіноксалінільну, бензофуранільну й 1Н-бензо[d][1,2,3]триазолільну групи. Арильні групи, що містять гетероатом, також включають, без обмеження, 2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксинільну й бензо[d][1,3]діоксолільну групи. Арильні групи, що містять гетероатом, також включають ароматичні кільця, конденсовані з гетероциклічним кільцем, що містить щонайменше один гетероатом і щонайменше одну карбонільну групу. Такі групи включають, без обмеження, діоксотетрагідрохіноксалінільну й діоксотетрагідрохіназолінільну групи.

[0142] Термін "арилалкокси" означає арильну групу, пов'язану з алкоксигрупою.

[0143] Термін "ариламідоалкіл" означає арил-С(O)NR-алкіл або арил-NRC(O)-алкіл.

[0144] Термін "арилалкіламідоалкіл" означає арил-алкіл-С(O)NR-алкіл або арил-алкіл-NRC(O)-алкіл, де R являє собою будь-яку підходящу групу, наведену нижче.

[0145] Термін "арилалкіл" відноситься до арильної групи, зв'язаної з алкільною групою.

[0146] Термін "галоген" або "галогено" відноситься до хлору, бром, фтору або йоду.

[0147] Термін "група, що відходить" відноситься до функціональної групи або атома, що може бути заміщений на іншу функціональну групу або атом у реакції заміщення, такий як реакція нуклеофільного заміщення. Як приклад, типові групи, що відходять, включають хлор, бром і йод групи; групи сульфонового ефіру, такі як мезилат, тозилат, брозилат, нозилат тощо; і ацилоксигрупи, такі як ацетокси, трифторацетокси тощо.

[0148] Термін "галоалкіл" означає алкільну групу, що містить один або декілька атомів галогену (наприклад, CF₃).

[0149] Термін "гетероалкіл" відноситься до алкільної групи, що містить гетероатом, такий як N, O, P, B, S або Si. Гетероатом може бути зв'язаний з іншою частиною гетероалкільної групи за допомогою насиченого або ненасиченого зв'язку. Таким чином, алкіл, що містить як замісники групи, таку як гетероциклоалкіл, що містить як замісники гетероциклоалкіл, гетероарил, що містить як замісники гетероарил, алкокси, арилокси, борил, фосфіно, аміно, силіл, тіо або селено, включений у термін "гетероалкіл". Приклади гетероалкілів включають, без обмеження, ціано, бензоіл, 2-піридил й 2-фурил.

[0150] Термін "гетероарилалкіл" означає гетероарильну групу, до якої приєднана алкільна група.

[0151] Термін "гетероцикл" означає моноциклічне або поліциклічне кільце, що містить атоми вуглецю і водню, що можливо містить один або два кратні зв'язки; при цьому атоми в кільці містять щонайменше один гетероатом, зокрема 1-4 гетероатома, незалежно обрані з азоту, кисню й сірки. Структури гетероциклічного кільця включають, без обмеження, моно-, бі- і трициклічні сполуки. Конкретні гетероцикли є моноциклічними або біциклічними. Типові гетероцикли включають циклосечовину, морфолініл, піролідіноніл, піролідиніл, піперидиніл, піперазиніл, гідантоїніл, валеролактаміл, оксираніл, оксетаніл, тетрагідрофураніл, тетрагідропіраніл, тетрагідропіридиніл, тетрагідропіримідиніл, тетрагідротіофеніл, тетрагідротіопіраніл, тетразоліл і уразоліл.

[0152] Термін "гетероциклоалкіл" відноситься до циклоалкільної групи, у якій щонайменше один з атомів вуглецю в кільці заміщений на гетероатом (наприклад, O, S або N).

[0153] Термін "гетероциклоалкілалкіл" означає гетероциклоалкільну групу, до якої приєднана алкільна група.

[0154] Термін "що містить замісники" зокрема передбачає й допускає одне або декілька заміщень, прийнятих у даній галузі техніки. Однак фахівцям у даній галузі техніки очевидно, що замісники варто вибирати таким чином, щоб не зробити негативного впливу на корисні характеристики сполуки або не заважати її функції. Підходящі замісники можуть включати, наприклад, галогеногрупи, перфторалкільні групи, перфторалкоксигрупи, алкільні групи, алкенільні групи, алкінільні групи, гідроксигрупи, оксогрупи, меркаптогрупи, алкілтіогрупи, алкоксигрупи, арильні або гетероарильні групи, арилокси або гетероарилоксигрупи, аралкільні або гетероаралкільні групи, аралкокси або гетероаралкоксигрупи, аміногрупи, алкіл- або діалкіламіногрупи, карбамоїльні групи, алкілкарбонільні групи, карбоксильні групи, алкоксикарбонільні групи, алкіламінокарбонільні групи, діалкіламінокарбонільні групи, арилкарбонільні групи, арилоксикарбонільні групи, алкілсульфонільні групи, арилсульфонільні групи, циклоалкільні групи, ціаногрупи, алкілтіогрупи C1-C6, арилтіогрупи, нітрогрупи, кетогрупи, ацильні групи, боронатні або борильні групи, фосфатні або фосфонільні групи, сульфамільні групи, сульфонільні групи, сульфінільні групи й комбінації зазначених груп. У випадку комбінацій, що містять замісники, таких як "арилалкіл, що містить замісники", або арильна, або алкільна група може містити замісники, або як арильна, так і алкільна групи можуть містити один або декілька замісників. Крім того, фахівцям у даній галузі техніки відомо, що у деяких

випадках підходящі замісники можуть комбінуватися з утворенням одного або декількох кілець.

[0155] Сполуки, зазначені в даному описі, містять один або декілька подвійних зв'язків й таким чином можуть призводити до виникнення цис/транс-ізомерів, а також інших конформаційних ізомерів. Даний винахід включає всі можливі ізомери такого роду, а також суміші таких ізомерів.

[0156] Сполуки, зазначені в даному описі, і зокрема вищенаведені замісники, можуть містити один або декілька центрів асиметрії й таким чином можуть призводити до виникнення діастереомерів й оптичних ізомерів. У даний винахід включені всі можливі діастереомери такого роду, а також їх рацемічні суміші, їх, власне кажучи, чисті виділені енантіомери, всі можливі геометричні ізомери й прийнятні солі зазначених ізомерів. Крім того, також включені суміші стереоізомерів, а також конкретні виділені стереоізомери. У процесі процедур синтезу, використовуваних для одержання таких сполук або при використанні процедур рацемізації й епімеризації, відомих фахівцям у даній галузі техніки, продукти таких процедур можуть являти собою суміш стереоізомерів.

[0157] У даному описі терміни "солі" й "фармацевтично прийнятні солі" відносяться до похідних зазначених сполук, коли вихідну сполуку модифікують шляхом одержання кислих або основних солей даної сполуки. Приклади фармацевтично прийнятних солей включають, без обмеження, солі неорганічних або органічних кислот основних груп, таких як аміни; і лужні або органічні солі кислих груп, таких як карбонові кислоти. Фармацевтично прийнятні солі включають традиційні нетоксичні солі або солі четвертинного амонію вихідної сполуки, утворені, наприклад, з нетоксичних неорганічних або органічних кислот. Наприклад, такі традиційні нетоксичні солі включають солі, одержані з неорганічних кислот, таких як соляна, бромистоводнева, сірчана, сульфамінова, фосфорна й азотна; і солі, одержані з органічних кислот, таких як оцтова, пропіонова, бурштинова, гліколева, стеаринова, молочна, яблучна, винна, лимонна, аскорбінова, памова, малеїнова, гідроксималеїнова, фенілоцтова, глутамінова, бензойна, саліцилова, сульфамінова, 2-ацетоксибензойна, фумарова, толуолсульфонова, метансульфонова, етандисульфонова, щавлева та ізетионова і т.д.

[0158] Фармацевтично прийнятні солі згідно із даним винаходом можуть бути синтезовані з вихідної сполуки, що містить основну або кислотну групу, стандартними хімічними способами. У цілому, такі солі можуть бути одержані шляхом здійснення взаємодії вільних кислотних або основних форм даних сполук із стехіометричною кількістю підходящої основи або кислоти у воді або органічному розчиннику або в їх суміші; у цілому, переважними є безводні середовища подібні ефіру, етилацетату, етанолу, ізопропанолу або ацетонітрилу. Переліки підходящих солей наведені в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, р. 1418, опис якого включений в даний опис за допомогою посилання.

[0159] Термін "сольват" означає сполуку або сіль зазначеної сполуки, яка додатково містить стехіометричну або нестехіометричну кількість розчинника, нековалентно зв'язаного силами міжмолекулярної взаємодії. У випадку, коли розчинник являє собою воду, сольват являє собою гідрат.

[0160] Термін "проліки" означає похідне сполуки, яке може гідролізуватися, окислятися або інакше реагувати в біологічних умовах (*in vitro* або *in vivo*) з утворенням активної сполуки, зокрема сполуки згідно із даним винаходом. Приклади проліків включають, без обмеження, похідні й метаболіти сполуки згідно із даним винаходом, які включають біогідролізуємі сполуки, такі як біогідролізуємі амід, біогідролізуємі ефіри, біогідролізуємі карбамати, біогідролізуємі карбонати, біогідролізуємі уреїди й біогідролізуємі аналоги фосфатів. Конкретні проліки сполук із карбоксильними функціональними групами являють собою нижчі алкілефіри карбонової кислоти. Карбоксилатні ефіри зручно одержують шляхом здійснення етерифікації будь-якої групи карбонової кислоти в молекулі. Як правило, проліки можуть бути одержані добре відомими способами, такими як описані Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6th ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) і Design and Application of Prodrugs (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmfh).

[0161] В даному описі, якщо не зазначене інше, терміни "біогідролізуємий амід", "біогідролізуємий ефір", "біогідролізуємий карбамат", "біогідролізуємий карбонат", "біогідролізуємий уреїд", "біогідролізуємий фосфат" означають амід, ефір, карбамат, карбонат, уреїд або фосфат, відповідно, сполуки, який: 1) не заважає біологічній активності сполуки, але може додати даній сполуці корисні властивості *in vivo*, такі як засвоєння, тривалість дії або початок дії; або 2) є біологічно неактивним, але перетворюється *in vivo* у біологічно активну сполуку. Приклади біогідролізуємих ефірів включають, без обмеження, нижчі алкілефіри, алкоксиацилокси ефіри, алкілациламіноалкілефіри й холінові ефіри. Приклади біогідролізуємих амідів включають, без обмеження, нижчі алкіламіди, амід альфа-амінокислот,

алкоксиациламіди й алкіламіноалкілкарбоніламіди. Приклади біогідролізуємих карбаматів включають, без обмеження, нижчі алкіламіни, що містять як замісники етилендіаміни, амінокислоти, гідроксиалкіламіни, гетероциклічні й гетероароматичні аміни та поліефіраміни.

[0162] У даному описі термін "аналог зазначеної сполуки" у контексті сполук, зазначених у даному описі, включає діастереомери, гідрати, сольвати, солі, проліки й N-оксиди сполук.

[0163] "Транслокаційний домен", "область зв'язування ліганди" і композиції химерних рецепторів, зазначені в даному описі також включають "аналоги" або "консервативні варіанти" й "міметики" ("пептидоміметики"), що мають структури й активність, яка по суті відповідає типовим послідовностям. Таким чином, у даному описі терміни "консервативний варіант" або "аналог", або "міметик" відносяться до поліпептиду, що містить модифіковану амінокислотну послідовність, таку, що зміна (зміни) по суті не змінюють структуру та/або активність поліпептиду (консервативного варіанта). Зазначені терміни включають консервативно модифіковані варіації амінокислотної послідовності, тобто заміщення, додавання амінокислот або делеції тих залишків, які не мають критичного значення для активності білка або заміщення амінокислот залишками, що мають схожі властивості (наприклад, кислі, основні, позитивно або негативно заряджені, полярні або неполярні тощо), таким чином, що заміщення навіть ключових амінокислот по суті не змінює структуру та/або активність.

[0164] Більш конкретно, термін "консервативно модифіковані варіанти" застосовується як до амінокислотних послідовностей, так і до послідовностей нуклеїнових кислот. Відносно конкретних послідовностей нуклеїнових кислот термін "консервативно модифіковані варіанти" означає ті нуклеїнові кислоти, які кодують ідентичні або по суті ідентичні амінокислотні послідовності, або у випадку, коли нуклеїнова кислота не кодує амінокислотну послідовність, означає по суті ідентичні послідовності. Через виродженість генетичного коду велике число функціонально ідентичних нуклеїнових кислот кодують який-небудь конкретний білок.

[0165] Наприклад, кодони GCA, GCC, GCG й GCU всі кодують амінокислоту аланін. Таким чином, у кожному положенні, де аланін визначений кодоном, кодон може бути замінений на будь-який з відповідних описаних кодонів без зміни кодованого поліпептиду.

[0166] Такі варіації нуклеїнових кислот являють собою "варіації мовчання", які є одним з видів консервативно модифікованих варіацій. У даному описі кожна послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, також характеризує кожен можливий варіант мовчання нуклеїнової кислоти. Фахівцеві очевидно, що кожен кодон у нуклеїновій кислоті (за винятком AUG, який, як правило, являє собою єдиний кодон для метіоніну, і TGG, який, як правило, являє собою єдиний кодон для триптофану) може бути модифікований з одержанням функціонально ідентичної молекули. Отже, кожна варіація мовчання нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, передбачається в кожній описаній послідовності.

[0167] Таблиці консервативного заміщення, у яких наведені функціонально схожі амінокислоти, добре відомі в даній галузі техніки. Наприклад, один з типових принципів вибору консервативних заміщень включає (вихідний залишок, за яким йде типове заміщення): ala/gly або ser; arg/lys; asn/gln або his; asp/glu; cys/ser; gin/asn; gly/asp; gly/ala або pro; his/asn або gln; ile/leu або val; leu/ile або val; lys/arg або gln, або glu; met/leu або tyr, або ile; phe/met або leu, або tyr; ser/thr; thr/ser; trp/tyr; tyr/trp або phe; val/ile або leu. Відповідно щодо альтернативного типового принципу використовують наступні шість груп, кожна з яких містить амінокислоти, які являють собою консервативні заміщення однієї на іншу: 1) Аланін (A), Серин (S), Треонін (T); 2) Аспарагінова кислота (D), Глутамінова кислота (E); 3) Аспарагін (N), Глутамін (Q); 4) Аргінін (R), Лізин (I); 5) Ізолейцин (I), Лейцин (L), Метіонін (M), Валін (V); і 6) Фенілаланін (F), Тирозин (Y), Триптофан (W); (див. також, наприклад, Creighton, Proteins, W. H. Freeman and Company (1984); Schultz and Schimer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag (1979)). Фахівцеві в даній галузі техніки очевидно, що вищезазначені заміщення являють собою не єдино можливі консервативні заміщення. Наприклад, для деяких цілей можна вважати всі заряджені амінокислоти консервативними заміщеннями однієї на іншу, позитивні вони або негативні. Крім того, індивідуальні заміщення, делеції або додавання, які змінюють, додають або видаляють одну амінокислоту або невеликий відсоток амінокислот у кодованій послідовності також можна розглядати як "консервативно модифіковані варіації".

[0168] Терміни "міметик" і "пептидоміметик" відносяться до синтетичної хімічної сполуки, що має по суті ті ж структурні та/або функціональні характеристики поліпептидів, наприклад, транслокаційні домени, області зв'язування ліганди або химерні рецептори згідно із даним винаходом. Міметик може або повністю складатися із синтетичних, неприродних аналогів амінокислот, або може являти собою химерну молекулу частково природних пептидних амінокислот і частково неприродних аналогів амінокислот. Міметик може також містити будь-яке число консервативних заміщень природних амінокислот, за умови, що такі заміщення також по

суті не змінюють структуру та/або активність міметика.

[0169] Як і у випадку поліпептидів згідно з даним винаходом, які являють собою консервативні варіанти, стандартне дослідження визначить чи входить міметик в об'єм даного винаходу, тобто що його структура та/або функція по суті не змінена. Композиції міметиків поліпептиду можуть містити будь-яку комбінацію неприродних структурних компонентів, які, як правило, входять до складу трьох структурних груп: а) групи зчеплення залишків, відмінні від природних амідних зв'язків ("пептидних зв'язків"); б) неприродні залишки замість амінокислотних залишків, що зустрічаються в природі; або с) залишки, які індують мімікрію вторинної структури, тобто індують або стабілізують вторинну структуру, наприклад, бета-поворот, гамма-поворот, бета-шар, конформацію альфа-спіралі тощо. Поліпептид може бути охарактеризований як міметик, коли всі або декілька його залишків з'єднані хімічним шляхом, а не природними пептидними зв'язками. Окремі пептидоміметичні залишки можуть бути з'єднані пептидними зв'язками, іншими хімічними зв'язками або шляхом сполучення, як наприклад, глутаральдегід, N-гідроксисукцинімідні ефіри, біфункціональні малеїніміди, N, N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC) або N, N'-диізопропілкарбодіімід (DIC). Зв'язувальні групи, які можуть бути альтернативною традиційним амідним зв'язкам ("пептидним зв'язкам") включають, наприклад, кетометилен (наприклад, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2$ для $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$), амінометилен (CH_2NH), етилен, олефін (CH_2 подвійний зв'язок CH), ефір (CH_2O), тіоефір (CH_2-S), тетразол (CN_4), тiazол, ретроамід, тіоамід або ефір (див., наприклад, Spatola, Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, Vol. 7, 267-357, Marcell Dekker, Peptide Backbone Modifications, NY (1983)). Поліпептид може бути також охарактеризований як міметик, якщо містить всі або декілька неприродних залишків замість амінокислотних залишків, що зустрічаються в природі; неприродні залишки добре описані в науковій і патентній літературі.

[0170] "Мітка" або "контрастна речовина" являє собою композицію, що виявляється спектроскопічними, фотохімічними, біохімічними, імунохімічними або хімічними способами. Наприклад, підходящі мітки включають ^{32}P , флуоресцентні барвники, електронно-щільні реагенти, ферменти (наприклад, зазвичай використовувані в ІФА (ELISA)), біотин, дигоксигенін або гаптени й білки, які можна зробити такими, що виявляються, наприклад, шляхом введення радіоактивної мітки в пептид, або які можуть бути використані для виявлення антитіл, що специфічно реагують із пептидом.

[0171] "Мічений зонд нуклеїнової кислоти або олігонуклеотид" являє собою зонд, який зв'язують або ковалентно за допомогою лінкера або хімічного зв'язку, або не ковалентно за допомогою іонних, ван-дер-ваальсових, електростатичних або водневих зв'язків з міткою таким чином, що присутність зонда може бути виявлена шляхом виявлення присутності мітки, зв'язаної із зондом.

[0172] У даному описі термін "зонд нуклеїнової кислоти або олігонуклеотид" визначений як нуклеїнова кислота, здатна зв'язуватися із цільовою нуклеїновою кислотою комплементарної послідовності за допомогою одного або декількох видів хімічних зв'язків, як правило, за допомогою спарювання комплементарних основ, звичайно шляхом утворення водневих зв'язків. У даному описі зонд може включати природні (тобто А, G, C або T) або модифіковані основи (7-деазагуанозин, інозин тощо). Крім того, основи в зонді можуть бути з'єднані зв'язком, відмітним від фосфодиефірного зв'язку, за умови, що він не заважає гібридизації. Таким чином, зонди можуть являти собою пептид-нуклеїнові кислоти, у яких складові основи з'єднані пептидними зв'язками, а не фосфодиефірними зв'язками. Фахівцeve в даній галузі техніки очевидно, що зонди можуть зв'язуватися із цільовими послідовностями, позбавленими повної комплементарності з послідовністю зонда, залежно від строгості умов гібридизації. Зонди можуть бути прямо мічені як у випадку з ізотопами, хромофорами, люмінофорами, хромогенами, або опосередковано мічені як у випадку з біотином, з яким стрептавідиновий комплекс може зв'язатися пізніше. Шляхом проведення аналізу на предмет присутності або відсутності зонда можна виявити присутність або відсутність обраної послідовності або підпослідовності.

[0173] Термін "гетерологічний" при вживанні відносно частин нуклеїнової кислоти, означає, що нуклеїнова кислота містить дві або більше підпослідовності, які в природі знаходяться в різному взаємовідношенні одна з одною. Наприклад, нуклеїнову кислоту, як правило, одержують рекомбінантним способом і вона містить дві або більше послідовності з незв'язаних генів, розташовані таким чином, щоб створити нову функціональну нуклеїнову кислоту, наприклад, промотор з одного джерела, а кодуєча область з іншого джерела. Аналогічним чином термін "гетерологічний білок" означає, що білок містить дві або більше послідовності, які в природі знаходяться у різному взаємовідношенні одна з одною (наприклад, гібридний білок).

[0174] Термін "промотор" визначений як набір послідовностей нуклеїнових кислот, які

направляють транскрипцію нуклеїнової кислоти. У даному описі промотор включає необхідні послідовності нуклеїнових кислот поруч із сайтом ініціації транскрипції, такі як у випадку промотору полімерази II типу, елемент ТАТА. Промотор також можливо включає елементи дистального енхансера (підсилювача) або репресора, які можуть бути розташовані на відстані до декількох тисяч пар основ від сайту ініціації транскрипції. "Конститутивний промотор" являє собою промотор, який активний за більшості умов навколишнього середовища і експериментальних умов. "Індукований промотор" являє собою промотор, який є активним при регулюванні навколишнього середовища й експериментальному регулюванні. Термін "функціонально зв'язаний" відноситься до функціонального зв'язку між послідовністю нуклеїнової кислоти, що контролює експресію (такою як промотор або набір центрів (сайтів) зв'язування факторів транскрипції), і другою послідовністю нуклеїнової кислоти, коли контролюючи експресію послідовність направляє транскрипцію нуклеїнової кислоти, що відповідає другій послідовності.

[0175] У даному описі термін "рекомбінантний" відноситься до полінуклеотиду, синтезованого або на який інакше впливали *in vitro* (наприклад, "рекомбінантний полінуклеотид"), до способів застосування рекомбінантних полінуклеотидів для одержання генних продуктів у клітинах або інших біологічних системах, або до поліпептиду ("рекомбінантний білок"), кодованого рекомбінантним полінуклеотидом. Термін "рекомбінантні способи" також включає легірування нуклеїнових кислот, що містять різні кодуєчі області або домени, або послідовності промоторів з різних джерел в експресійну касету або вектор для експресії, наприклад, індукованої або конститутивної експресії гібридного білка, що містить транслокаційний домен згідно із даним винаходом і послідовність нуклеїнової кислоти, ампліфіковану за допомогою праймера згідно із даним винаходом.

[0176] Термін "селективно (або специфічно) гібридується" відноситься до зв'язування, утворення дуплекса або гібридизації молекули тільки в конкретну нуклеотидну послідовність у жорстких умовах гібридизації, коли ця послідовність присутня в комплексній суміші (наприклад, сумарна клітинна або бібліотечна ДНК або РНК).

[0177] Термін "жорсткі умови гібридизації" відноситься до умов, у яких зонд буде гібридуватися в цільову послідовність, як правило, у комплексній суміші нуклеїнової кислоти, але не в інші послідовності. Жорсткі умови залежать від послідовності і будуть відрізнятися за різних обставин. Більш довгі послідовності, зокрема, гібридизуються при більш високих температурах. Детальний посібник з гібридизації нуклеїнових кислот наведено в Tijssen, *Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes*, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993). У цілому, жорсткі умови підбирають таким чином, щоб вони були приблизно на 5-10 °C нижче температури плавлення (T_p) для конкретної послідовності при певній іонній силі рН. T_p являє собою температуру (при певній іонній силі, рН, і концентрації нуклеїнової кислоти), при якій 50 % зондів, комплементарні мішені, гібридизуються в цільову послідовність у стані рівноваги (тому що цільові послідовності присутні в надлишку, при T_p 50 % зондів перебувають у рівновазі). Жорсткими умовами будуть умови, при яких концентрація солі менше приблизно 1.0 М концентрації іона натрію, як правило, приблизно 0.01-1.0 М концентрації іона натрію (або інших солей) при 7.0-8.3, а температура становить щонайменше близько 30 °C для коротких зондів (наприклад, 10-50 нуклеотидів) і щонайменше близько 60 °C для довгих зондів (наприклад, більше 50 нуклеотидів). Жорсткі умови можна також одержати додаванням дестабілізуючих агентів, таких як формамід. Для селективної або специфічної гібридизації позитивний сигнал являє собою щонайменше дворазову, можливо десятикратну фонову гібридизацію. Типові жорсткі умови гібридизації можуть бути наступними: 50 % формамід, 5xSSC й 1 % ДСН, здійснення інкубації при 42 °C, або 5xSSC, 1 % ДСН, здійснення інкубації при 65 °C, із промиванням в 0.2xSSC й 0.1 % ДСН при 65 °C. Такі стадії гібридизації й промивання можна здійснювати, наприклад, протягом 1, 2, 5, 10, 15, 30, 60 або більше хвилин.

[0178] Нуклеїнові кислоти, які не гібридизуються одна в одну в жорстких умовах, тим не менш, по суті є родинними, якщо поліпептиди, які вони кодуєть, по суті є родинними. Це відбувається, наприклад, коли копію нуклеїнової кислоти створюють із використанням максимальної, дозволеної генетичним кодом виродженості кодона. У таких випадках нуклеїнові кислоти, як правило, гібридизуються в помірно жорстких умовах гібридизації. Типові "помірно жорсткі умови гібридизації" включають гібридизацію в буфері 40 % формаміду, 1 М NaCl, 1 % ДСН при 37(C і промивання в 1xДСН при 45(C. Такі стадії гібридизації й промивання можна здійснювати, наприклад, протягом 1, 2, 5, 10, 15, 30, 60 або більше хвилин. Позитивна гібридизація являє собою щонайменше дворазову фонову. Будь-якому фахівцеві цілком очевидно, що альтернативні умови гібридизації й промивання можуть бути використані для

одержання умов схожої жорсткості.

[0179] Термін "антитіло" відноситься до поліпептиду, що містить каркасну ділянку з імуноглобулінового гену або його фрагментів, який специфічно зв'язується й розпізнає антиген. Розпізнані імуноглобулінові гени включають капу, лямбду, альфу, гаму, дельту, епсілон і мю-гени константної області, а також незліченну кількість імуноглобулінових генів варіабельної області. Легкі ланцюги класифікують на капу або лямбду. Важкі ланцюги класифікують на гаму, мю, альфу, дельту або епсілон, які у свою чергу визначають класи імуноглобулінів, IgG, IgM, IgA, IgD й IgE, відповідно.

[0180] Структурна одиниця типового імуноглобуліну (антитіла) містить тетрамер. Кожен тетрамер складається з двох ідентичних пар поліпептидних ланцюгів, кожна з яких містить один "легкий" (близько 25 кДа) і один "важкий" ланцюг (близько 50-70 кДа). N-термінал кожного ланцюга визначає варіабельну область приблизно 100-110 або більше амінокислот, головним чином відповідальну за розпізнавання антигену. Терміни "варіабельний легкий ланцюг" (VL) і "варіабельний важкий ланцюг" (VH) відносяться до зазначеного легкого й важкого ланцюга відповідно.

[0181] "Химерне антитіло" являє собою молекулу антитіла, у якої (а) константна область або її частина змінена, заміщена або замінена таким чином, що антигензв'язуючий центр (варіабельна область) пов'язаний з константною областю іншого або зміненого класу, ефекторної функції та/або виду або зовсім іншої молекули, яка надає нові властивості химерному антитілу, наприклад, ферменту, токсину, гормону, фактора росту, лікарського засобу і т.д.; або (b) варіабельна область або її частина змінена, заміщена або замінена на варіабельну область, що має іншу або змінену специфічність відносно антигену.

[0182] Антитіло "анти-T2R" являє собою антитіло або фрагмент антитіла, який специфічно зв'язується з поліпептидом, кодованим геном T2R, кДНК або її підпоследовністю.

[0183] Термін "імунологічний аналіз" являє собою аналіз із використанням антитіла для специфічного зв'язування з антигеном. Імунологічний аналіз характеризується використанням властивостей специфічного зв'язування конкретного антитіла для ізолювання, націлювання та/або для кількісного визначення антигену.

[0184] Термін "специфічно (або селективно) зв'язується" з антитілом або "специфічно (або селективно) імунореактивний відносно до" щодо білка або пептиду означає реакцію зв'язування, яка визначає присутність білка в гетерогенній популяції білків та інших біологічних форм. Таким чином, у позначених умовах імунологічного аналізу певні антитіла зв'язуються з конкретним білком щонайменше у два рази більше і по суті не зв'язуються в значній кількості з іншими білками, присутніми у зразку. Для специфічного зв'язування з антитілом у таких умовах може бути необхідне антитіло, яке обирають виходячи з його специфічності щодо конкретного білка.

[0185] Наприклад, поліклональні антитіла, вирощені до члена родини T2R конкретних видів, таких як пацюк, миша або людина, можуть бути обрані для одержання тільки тих поліклональних антитіл, які є специфічно імунореактивними відносно поліпептиду T2R або до його імуногенної частини, а не до інших білків за винятком ортологів або поліморфних варіантів та алелей поліпептиду T2R. Даний вибір може бути здійснений шляхом видалення антитіл, які дають перехресну реакцію з молекулами T2R інших видів або інших молекул T2R. Також можуть бути обрані тільки ті антитіла, які розпізнають GPCR тільки родини T2R, а не GPCRs інших родин. Може бути використаний ряд форматів імунологічного аналізу для вибору антитіл, специфічно імунореактивних відносно конкретного білка. Наприклад, твердофазні імунологічні аналізи ІФА (ELISA) зазвичай використовують для вибору антитіл, специфічно імунореактивних відносно білка (див., наприклад, Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, (1988) для опису форматів і умов імунологічного аналізу, які можуть бути використані для визначення специфічної імунореактивності). Як правило, специфічна або селективна реакція буде являти собою щонайменше дворазовий фоновий сигнал або шум, а в основному більше, ніж 10-100-кратний фоновий сигнал або шум.

[0186] Термін "селективно асоціюється з" відноситься до здатності нуклеїнової кислоти "селективно гібридизуватися" з іншою нуклеїновою кислотою, як визначено вище, або до здатності антитіла "селективно (або специфічно) зв'язуватися" з білком, як визначено вище.

[0187] Термін "вектор експресії" відноситься до будь-якої системи для рекомбінантної експресії для експресії послідовності нуклеїнової кислоти згідно із даним винаходом *in vitro* або *in vivo*, конститутивно або індуковано в будь-якій клітині, включаючи прокаріотичну, дріжджову, грибову, рослинну клітину, клітину комахи або ссавця. Зазначений термін включає лінійні або кільцеві системи для експресії. Термін включає системи для експресії, які залишаються в епісомальній формі або інтегрують у геном клітини-хазяїна. Системи для експресії можуть бути або не бути здатні до самореплікації, тобто здійснювати тільки тимчасову експресію в клітині.

Термін включає рекомбінантні експресійні "касети", що містять тільки мінімальну кількість елементів, необхідних для транскрипції рекомбінантної нуклеїнової кислоти.

[0188] Під терміном "клітина-хазяїн" розуміють клітину, яка містить вектор експресії й сприяє реплікації або експресії вектора експресії. Клітини-хазяїни можуть являти собою прокаріотичні клітини, такі як *E. coli*, або еукаріотичні клітини, такі як клітини дріжджів, комах, земноводних або ссавців, такі як CHO, HeLa, HEK-293 тощо, наприклад, культивовані клітини, експлантати й клітини *in vivo*.

[0189] Виходячи з вищевикладеного, згідно із даним винаходом запропоновані аналізи для ідентифікації сполук, які модулюють, переважно блокують, конкретну активацію раніше ідентифікованого рецептора гіркого смаку людини за допомогою гірких сполук, наприклад, гірких сполук, присутніх у каві і одержаних з неї екстрактах, та структурно родинних і інших гірких сполук. Зокрема, згідно із даним винаходом запропоновані аналізи на основі клітин для здійснення ідентифікації сполук, які модулюють (наприклад, блокують) активацію hT2R8 й hT2R14. Дані сполуки будуть модулювати гіркий смак, пов'язаний із цими смаковими рецепторами у людей. Це буде підтверджено тестами на смак.

[0190] Згідно із даним винаходом також ідентифікований і запропонований антагоніст із різноманітними антагоністичними властивостями, який може бути використаний у продуктах харчування, напоях, лікарських засобах та інших речовинах для прийому усередину людиною або твариною, що містять відомі й невідомі гіркі сполуки, у яких гіркий смак підходящим чином зведений до мінімуму або усунутий.

[0191] Той факт, що вищевказані смакові рецептори зокрема реагують на гірку сполуку (сполуки), присутню у каві, і на конкретні гіркі сполуки, які взаємодіють із одним, численними або невідомими рецепторами гіркого смаку, був визначений по суті за допомогою системи для експресії HEK293 і кальцієвих способів візуалізації, описаних в інших публікаціях, а також патентних заявках, поданих даним Правонаступником, наприклад, США за номерами 10/191,058 й 09/825,882, обидві з яких повністю включені в даний опис за допомогою посилання. Більш конкретно, дані винахідники трансфікували клітини HEK293 певним hT2R, міченим родопсиновою міткою в 35 амінокислот (SEQ ID NO:1), разом з химерним G-білком (G16gust44), який містить послідовність G-білка Gα16, модифіковану шляхом заміщення карбокси-44 амінокислотних залишків на залишки густдуцину, і фіксували реакції даних клітин на конкретні гіркі ліганди за допомогою кальцієвих способів візуалізації.

[0192] Зокрема, винахідники використовували аналіз на основі клітин ссавця для спостереження за активністю hT2R. Для кальцієвих візуалізуючих аналізів клітини висівали в 48-лункові планшети для тканинної культури. Через 24 години клітини тимчасово трансфікували експресійною плазмідною (pEAK10), яка містить послідовність нуклеїнової кислоти hT2R, і плазмідною (pEAK10), яка містить химерний G-білок (G16gust44). Ще через 24 години клітини інкубували із флуоресцентним барвником, специфічним відносно кальцію (Fluo-4; Molecular Probes). Навантажені клітини піддають впливу різних гірких молекул і активація hT2R призводить до активації G16gust44, яка у свою чергу призводить до мобілізації кальцію усередині клітин. Таке збільшення концентрації кальцію змінює флуоресцентні властивості кальцієвого барвника усередині клітин. Дані зміни контролюють за допомогою флуоресцентної мікроскопії.

[0193] Винахідники також використовували автоматизовану флуориметричну прицільну систему FLIPR із застосуванням протоколу, що трохи відрізняється. Лінію клітин HEK293, стабільно експресуючу G16gust44, трансфікували експресійною плазмідною hT2R, через 24 години клітини навантажували й аналізували на FLIPR.

[0194] Після ідентифікації ліганду на предмет конкретного hT2R одержують лінію клітин HEK293, стабільно експресуючу як hT2R, так і G16gust44, полегшуючи наступні скринінгові аналізи для ідентифікації інших лігандів, які активують конкретний hT2R або які модулюють (блокують або підсилюють) активацію hT2R за допомогою іншого гіркого ліганду, такого як гірка сполука, що міститься в каві. Це дозволяє уникнути тимчасової трансфекції.

[0195] Як показано на Фігурах, у результаті таких експериментів було виявлено, що hT2R8 й hT2R14 реагують на присутні в каві гіркі сполуки й ідентифіковані сполуки, які інгібують або блокують гіркий смак кави. Також у результаті експериментів на Фіг. 5 та в Прикладі 3 нижче виявляють основні антагоністичні властивості Сполуки С зокрема.

[0196] Ці результати показують, що клітини, які ідентифікували смакові рецептори hT2R, можуть бути використані в аналізах для ідентифікації лігандів, що модулюють гіркий смак, пов'язаний щонайменше з одним із зазначених конкретних hT2R, а також в аналізах для виявлення сполук, що відповідають за гіркий смак.

[0197] Переважно, у цих аналізах буде використана тестуєма клітина, яка експресує ДНК, що

кодує hT2R, який містить одну з амінокислотних послідовностей, ідентифікованих нижче. Однак очікується, що фрагменти, ортологи, варіанти або химери поліпептидів цих рецепторів, які зберігають функціональні властивості цих рецепторів гіркої смаку, тобто реагують на деякі гіркі сполуки, також будуть придатними в цих аналізах. Приклади таких варіантів включають сплайс-варіанти, одонуклеотидні поліморфізми, алельні варіанти і мутації, одержані рекомбінантними або хімічними способами або такі, що зустрічаються в природі. Способи виділення та експресії рецепторів T2R, які використовують в аналізах згідно із даним винаходом і аналізах, які передбачені для використання в даному винаході для ідентифікації сполук, інгібуючих активацію цих рецепторів, наведені нижче.

Виділення й Експресія T2R

[0198] Виділення й експресію T2R або їх фрагментів або варіантів, згідно із даним винаходом можна здійснювати за допомогою звичайних методик клонування з використанням проб або праймерів, сконструйованих на основі послідовностей нуклеїнових кислот T2R, представлених у даній заявці. Послідовності, родинні T2R, також можна ідентифікувати по базах даних генома людини й інших видів за допомогою послідовностей, представлених у даному описі й відомих комп'ютерних пошукових технологіях, наприклад, програмі пошуку послідовностей BLAST. В одному варіанті здійснення, псевдогени, описані в даній заявці, можна застосовувати для ідентифікації функціональних алелей або родинних генів.

[0199] Вектори експресії далі можна застосовувати для інфікування або трансфікування в клітину-хазяїна для функціональної експресії цільових послідовностей. Ці гени й вектори можна створювати й експресувати *in vitro* або *in vivo*. Фахівцеві в даній галузі буде зрозуміло, що фенотипи, які підходять для зміни й контролю за експресією нуклеїнових кислот можна одержати шляхом модуляції експресії або активності генів і нуклеїнових кислот (наприклад, за допомогою промоторів, енхансерів тощо) у складі векторів згідно із даним винаходом. Можна застосовувати будь-який з відомих описаних методів зниження або підвищення експресії або активності. Даний винахід можна застосовувати в комбінації з будь-яким із способів або протоколів, відомих у даній галузі, і детально описаних у науковій і патентній літературі.

[0200] Також нуклеїнові кислоти можна синтезувати *in vitro* за допомогою добре відомих методик хімічного синтезу, як описано в, наприклад, Carruthers, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 47:411-18 (1982); Adams, Am. Chem. Soc., 105:661 (1983); Belousov, Nucleic Acids Res. 25:3440-3444 (1997); Frenkel, Free Radic. Biol. Med. 19:373-380 (1995); BlomMers, Biochemistry 33:7886-7896 (1994); Narang, Meth. Enzymol. 68:90 (1979); Brown, Meth. Enzymol. 68:109 (1979); Beaucage, Tetra. Lett. 22:1859 (1981); Патент США № 4,458,066. Дволанцюгові фрагменти ДНК можна одержати як шляхом синтезу комплементарного ланцюга й випадом ланцюгів у відповідних умовах, так і шляхом додавання комплементарного ланцюга з використанням ДНК-полімерази з підходящою послідовністю праймера.

[0201] Методики маніпуляцій з нуклеїновими кислотами, наприклад, для одержання мутацій у послідовностях, субклонування, внесення мітки в проби, секвенування, гібридизації, і їм подібних, детально описані в науковій і патентній літературі. Дивись, наприклад, Sambrook, ed., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory (1989); Ausubel, ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York (1997); Tijssen, ed., Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid Probes, Part I, Theory and Nucleic Acid Preparation, Elsevier, N.Y. (1993).

[0202] Нуклеїнові кислоти, вектори, капсиди, поліпептиди та їм подібні можна аналізувати й кількісно оцінювати будь-яким з багатьох звичайних методів, добре відомих фахівцям у даній галузі. Такі методи включають, наприклад, методи аналітичної біохімії, такі, як ЯМР, спектрофотометрія, радіографія, електрофорез, капілярний електрофорез, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), тонкошарова хроматографія (ТШХ), і гіпердифузійна хроматографія; різні імунологічні методи, наприклад, реакція преципітація в гелі або в рідині, имунодифузія, имуноелектрофорез, радіоімуноаналіз (RIA), твердофазний имуноферментний аналіз (ELISA), имунофлюоресцентний аналіз, Саузерн-блот, Нозерн-блот, дот-блот, гель-електрофорез (наприклад, електрофорез у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію), ПЛР у режимі реального часу, кількісна ПЛР, інші методи ампліфікації нуклеїнових кислот, націлювання або посилення сигналу, внесення радіоактивної мітки, підрахунку імпульсів, і афінної хроматографії.

[0203] Для ампліфікації нуклеїнових кислот, що кодують ділянку зв'язування ліганди T2R можна застосовувати олігонуклеотидні праймери. Нуклеїнові кислоти, що описані в даній заявці, також можна клонувати й визначати їх кількість за допомогою методик ампліфікації. Методики ампліфікації також добре відомі в даній галузі, і включають, наприклад, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) (Innis ed., PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications, Academic Press,

N.Y. (1990); Innis ed., PCR Strategies, Academic Press, Inc., N.Y. (1995)); лігазну ланцюгову реакцію (ЛЛР) (Wu, Genomics, 4:560 (1989); Landegren, Science, 241:1077 (1988); Barringer, Gene, 89:117 (1990)); транскрипційну ампліфікацію (Kwoh, PNAS, 86:1173 (1989)); самопідтримувану реплікацію послідовностей (Guatelli, PNAS, 87:1874 (1990)); Q β репліказну ампліфікацію (Smith, J. Clin. Microbiol., 35:1477-91 (1997)); автоматизований ампліфікаційний аналіз із репліказою Q β (Burg, Mol. Cell. Probes, 10:257-71 (1996)); та інші методики з використанням РНК-полімерази (наприклад, NASBA, Cangene, Mississauga, Ontario). Див. також, Berger, Methods Enzymol., 152:307-16 (1987); Sambrook; Ausubel; U.S. Pat. Nos. 4,683,195 й 4,683,202; Sooknanan, Biotechnology, 13:563-64 (1995).

[0204] Ампліфіковані нуклеїнові кислоти, як окремо, так й у виді бібліотек, якщо це буде потрібно, можна клонувати відповідно до методів, відомих в даній галузі, у будь-якому з великої кількості векторів за допомогою звичайних методів молекулярної біології; методи клонування ампліфікованих нуклеїнових кислот *in vitro* описані, наприклад, у Патенті США № 5,426,039. Для полегшення клонування ампліфікованих послідовностей, у пару праймерів для ПЛР можна вмонтувати сайти ферментативної рестрикції. Наприклад, у пару праймерів згідно із даним винаходом вбудовували сайти Pst I й Bsp E1. Ці особливі сайти рестрикції містять послідовність, яка, якщо їх піддати легуванню, буде знаходитись всередині рамки зчитування з "донорною" кодуючою послідовністю рецептора, який складається з 7 трансмембранних доменів, всередину якої їх сплайсирують (кодуюча послідовність ділянки зв'язування ліганду знаходиться всередині відносно поліпептиду, що складається з 7 трансмембранних доменів, таким чином, якщо потрібно, щоб конструкція транслювалася в прямому напрямку від сплайсованого сайту рестрикції ферментом, продукти поза рамкою зчитування є небажаними; це може бути обов'язковим, якщо область ліганду, яку включено, в основному являє собою VII трансмембранний домен). Для збереження вихідної послідовності донорного рецептора, що складається з 7 трансмембранних доменів, можна створити праймери. Як альтернатива, праймери можуть кодувати амінокислотні залишки, які представляють собою консервативні заміни (наприклад, гідрофобні для гідрофобного залишку, див. наведені вище дані), або функціонально корисні послідовності (наприклад, не обмежують збирання плазматичної мембрани, викликають розщеплення пептидазами, викликають неправильну складку рецептора і т.п.).

[0205] Можна створювати пари праймерів для селективної ампліфікації ділянок зв'язування ліганду білків родини T2R. Ці ділянки зв'язування ліганду можуть відрізнятися своїми лігандами; отже, ділянка, що може служити мінімальною ділянкою зв'язування для одного ліганду, може виявитися занадто обмеженою для другого потенційного ліганду. Отже, можна ампліфікувати ділянки зв'язування T2R (що має 7 трансмембранних доменів) різного розміру, які складаються з різних доменів; наприклад, із трансмембранних (TM) доменів з II по VII, з III по VII, з III по VI або з II по VI, або їх варіантів (наприклад, тільки підпослідовність певного домену, послідовність зі зміненням порядку доменів тощо) або T2R, що включає 7 трансмембранних доменів.

[0206] Оскільки доменна структура й послідовність багатьох білків родини T2R, що мають у своєму складі 7 трансмембранних доменів, відомі, фахівець у даній галузі здатний вибрати фланкуючі й внутрішні доменні послідовності як модельні послідовності для створення вироджених пар праймерів для ампліфікації. Наприклад, послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує з II по VII домени, можна створити методом ампліфікації за допомогою реакції ПЛР із використанням пари праймерів. Для ампліфікації нуклеїнової кислоти, що несе послідовність I трансмембранного домену (TM I), можна створити вироджений праймер з нуклеїнової кислоти, що кодує 1 консенсусну послідовність родини T2R, описану вище. Такий вироджений праймер можна використовувати для створення ділянки зв'язування, що включає в себе TM з I по III, TM з I по IV, TM з I по V, TM з I по VI або TM з I по VII). Базуючись на консенсусних послідовностях білків родини T2R, представлених у даній заявці, можна створювати й інші вироджені праймери. Такий вироджений праймер можна використовувати для створення ділянки зв'язування, що включає в себе TM з III по IV, TM з III по V, TM з III по VI або TM з III по VII.

[0207] Схеми створення пар вироджених праймерів добре відомі в даній галузі. Наприклад, комп'ютерна програма COnsensus-DEgenerate Hybrid Oligonucleotide Primer (CODEHOP) доступна за адресою <http://blocks.fhcrc.org/codehop.html>, і прямо зв'язана із сайтом BlockMaker, що здійснює вирівнювання множинних послідовностей для визначення гібридних праймерів, починаючи з ряду родинних білкових послідовностей, таких як відомі ділянки зв'язування ліганди смакового рецептора (дивися, наприклад, Rose, Nucleic Acids Res., 26:1628-35 (1998); Singh, Biotechniques, 24:318-19 (1998)).

[0208] Засоби синтезу пар олігонуклеотидних праймерів добре відомі в даній галузі. Можна використовувати "природні" пари основ або синтетичні пари основ. Наприклад, використання

штучних нуклеотидних основ надає можливість різнобічного підходу до маніпуляцій з послідовністю праймера й створення більш складної суміші продуктів ампліфікації. Різні родини штучних нуклеотидних основ здатні здобувати множинні напрямки водневих зв'язків, шляхом зрушень внутрішніх зв'язків для одержання можливостей виродженого молекулярного розпізнавання. Внесення таких аналогів в одному положенні праймера для ПЛР дозволяє створювати складну бібліотеку продуктів ампліфікації. Див., наприклад, Hoops, *Nucleic Acids Res.*, 25:4866-71 (1997). Для одержання структурних аналогів природних основ у складі ДНК також можна використовувати й неполярні молекули. Структурний аналог без водневих зв'язків аденіну може успішно й селективно реплікуватися проти неполярного структурного аналога тиміну (див., наприклад, Morales, *Nat. Struct. Biol.*, 5:950-54 (1998)). Наприклад, дві вироджені основи можуть бути піримідиною основою 6Н, 8Н-3,4-дигідропіримідо-[4,5-с][1,2]оксазин-7-оном або пуриною основою N6-метокси-2,6-діамінопурином (див., наприклад, Hill, *PNAS*, 95:4258-63 (1998)). Приклади вироджених праймерів згідно із даним винаходом включають аналог нуклеотидної основи 5'-диметокситритіл-N-бензоїл-2'-дезоксидитидин, 3'-[(2-ціаноетил)-і(N, N-диізопропіл)]-фосфорамідит (термін "Р" у послідовностях, див. вище). Цей аналог піримідину утворює водневі зв'язки з пуринами, включаючи залишки А й Г.

[0209] Поліморфні варіанти, алелі, й міжвидові гомологи, по суті ідентичні рецептору, описаному в даній заявці, можна виділяти за допомогою проб нуклеїнових кислот, описаних вище. В іншому варіанті, для клонування поліпептидів і поліморфних варіантів, алелей і міжвидових гомологів T2R можна використовувати бібліотеки експресованих послідовностей, визначаючи експресовані гомологи імунологічним методом з використанням антисироватки або очищених антитіл до поліпептиду T2R, які також розпізнають і селективно зв'язують гомолог T2R.

[0210] Нуклеїнові кислоти, що кодують ділянки зв'язування лігандів смакових рецепторів, можна одержувати шляхом ампліфікації (наприклад, за допомогою ПЛР) відповідних послідовностей нуклеїнових кислот, використовуючи відповідні (ідеальні або вироджені) пари праймерів. Нуклеїнова кислота, яку будуть ампліфікувати, може являти собою ДНК будь-якої клітини або тканини, або мРНК або кДНК, одержану з клітин, що експресують смаковий рецептор.

[0211] В одному варіанті здійснення, конструюють гібридні послідовності, що кодують білки, які включають нуклеїнові кислоти, що кодують T2R, злиті з послідовностями, відповідальними за транслокацію. Також запропоновані гібридні T2R, що включають ділянки транслокації й ділянки зв'язування сполук, які викликають відчуття смаку, інших родин хемосенсорних рецепторів, зокрема, смакових рецепторів. Ці послідовності нуклеїнових кислот можна функціонально зв'язати з контрольними елементами транскрипції або трансляції, наприклад, з послідовностями ініціації транскрипції й трансляції, промоторами й енхансерами, термінаторами транскрипції й трансляції, послідовностями поліаденілування, та іншими послідовностями, що беруть участь у процесі транскрипції ДНК у РНК. У конструюванні полігенних експресуємих кластерів, векторів і трансгенів, для того, щоб домогтися точної експресії цільової нуклеїнової кислоти у всіх цільових клітинах або тканинах, можна використовувати фрагмент-промотор.

[0212] В іншому варіанті здійснення, у білки злиття можна включати С-термінальні або N-термінальні послідовності транслокації. Додатково, білки злиття можуть містити додаткові елементи, наприклад, для детекції білків, їх очищення, або для інших цілей. Детектування й очищення таких допоміжних доменів включає, наприклад, використання пептидів, що утворюють комплекси з металами, такі як полігістидинові канали, гістидин-триптофанові елементи, або інші домени, що дозволяють проводити очищення на іммобілізованих металах; мальтоза-зв'язуючий білок; домени білка А, що дозволяють проводити очищення на іммобілізованому імуноглобуліні; або домен, що використовується у системі очищення, оснований на використанні мітки FLAG й афінності (ImMunex Corp, Seattle Wash.).

[0213] Включення розщеплюваних лінкерних послідовностей, таких, як Фактор Ха (див., наприклад, Ottavi, *Biochimie*, 80:289-93 (1998)), мотив пізнавання субтилізінової протеази (див., наприклад, Polyak, *Protein Eng.*, 10:615-19 (1997)); ентерокіназ (Invitrogen, San Diego, Calif.), та їм подібних, між доменом транслокації (для достатньої експресії плазматичної мембрани) й іншою частиною трансльованого пептиду, може бути корисно з метою полегшення очищення. Наприклад, одна структура може включати поліпептид, що кодує послідовність нуклеїнової кислоти, зв'язаний із шістьма залишками гістидину, за якими слідує тіоредоксин, сайт розщеплення (рестрикції) для ентерокінази (див., наприклад, Williams, *Biochemistry*, 34:1787-97 (1995)), і С-термінальний домен транслокації. Залишки гістидину сприяють виявленню й очищенню, у той час, як сайт розщеплення (рестрикції) для ентерокінази надає можливості очищення цільового(их) білка(ів) від білка злиття, що залишився. Технології, що стосуються

векторів, які кодують білки злиття, і способи застосування білків злиття, детально описані в науковій і патентній літературі (див., наприклад, Kroll, DNA Cell. Biol., 12:441-53 (1993)).

[0214] Вектори експресії, як окремі вектори експресії, так і їхні бібліотеки, що містять послідовності, які кодують ділянку зв'язування ліганду, можна включити в геном, або в цитоплазму, або в ядро клітини, і експресувати за допомогою великої кількості загальноприйнятих методик, детально описаних у науковій і патентній літературі. Див., наприклад, Roberts, Nature, 328:731 (1987); Berger supra; Schneider, Protein Exper. Purif., 6435:10 (1995); Sambrook; Tijssen; Ausubel. Технічні описи, надавані виробниками біологічних реагентів, також містять інформацію, що стосується відомих біологічних методів. Вектори можна виділяти з природних джерел, одержати з таких джерел, як ATCC або бібліотеки GenBank, або одержати за допомогою синтетичних або рекомбінантних методів.

[0215] Нуклеїнові кислоти можна експресувати у полігенних кластерах експресії, векторах або вірусах, постійно або тимчасово експресуючих в клітинах (наприклад, епісомні системи експресії). Для надання клітинам і послідовностям, що піддаються трансформації, фенотипу, який забезпечує можливість селекції, у полігенні кластери й вектори експресії можна включати маркери селекції. Наприклад, маркери селекції можуть кодувати інформацію про підтримання епісомальної реплікації, що усуває необхідність інтеграції в геном клітини-хазяїна. Наприклад, маркер може кодувати стійкість до антибіотиків (наприклад, до хлорамфеніколу, канаміцину, G418, блеоміцину, гідроміцину) або стійкість до гербіцидів (наприклад, до хлорсульфону або Basta) для селекції клітин, які піддали трансформації цільовими послідовностями ДНК (див., наприклад, Blondelet-Rouault, Gene, 190:315-17 (1997); Aubrecht, J. Pharmacol. Exp. Ther., 281:992-97 (1997)). Оскільки гени маркерів селекції, що надають стійкість до таких субстратів, як неоміцин або гідроміцин, можна застосовувати тільки в культурі тканини, як маркери селекції *in vitro* й *in vivo* також використовують гени хеморезистентності.

[0216] Химерна послідовність нуклеїнової кислоти може кодувати ділянку зв'язування ліганди T2R у межах будь-якого поліпептиду, що складається з 7 трансмембранних доменів. Через те, що поліпептидні рецептори, що складаються з 7 трансмембранних доменів, мають однакові первинні послідовності й вторинну й третинну структуру, структурні домени (наприклад, позаклітинний домен, трансмембранні домени, цитоплазматичний домен тощо) можна ідентифікувати шляхом аналізу послідовності. Наприклад, за допомогою гомологічного моделювання, аналізу Фур'є, і визначення періодичності спіралі можна ідентифікувати й охарактеризувати сім доменів з послідовністю, що відповідає рецепторам, що складаються з 7 трансмембранних доменів. Для оцінки переважних періодів, які характеризують профілі гідрофобності й варіабельності аналізованих послідовностей можна застосовувати алгоритми швидкого перетворення Фур'є (FFT). Покращення методів визначення періодичності й коефіцієнта періодичності альфа-спіралі можна забезпечити, наприклад, методами по Donnelly, Protein Sci., 2:55-70 (1993). Інші алгоритми вирівнювання й моделювання добре відомі в даній галузі (див., наприклад, Peitsch, Receptors Channels, 4:161-64 (1996); Kyte & Doolittle, J. Md. Biol., 157:105-32 (1982); i Cronet, Protein Eng., 6:59-64 (1993).

[0217] Даний винахід включає не тільки молекули нуклеїнових кислот і поліпептидів, що мають певні послідовності нуклеїнових кислот і амінокислот, але також їх фрагменти, зокрема, фрагменти, що складаються з, наприклад, 40, 60, 80, 100, 150, 200, або 250 нуклеотидів, або більше, а також фрагменти поліпептидів, що складаються з, наприклад, 10, 20, 30, 50, 70, 100, або 150 амінокислот, або більше. Фрагменти нуклеїнових кислот можливо кодують антигенний поліпептид, здатний зв'язуватися з антитілом до рецептора родини T2R. Далі, фрагмент білка згідно із даним винаходом може бути антигенним фрагментом, здатним зв'язуватися з антитілом до рецептора родини T2R.

[0218] Також запропоновані химерні білки, що складаються з щонайменше 10, 20, 30, 50, 70, 100, або 150 амінокислот, або більше, щонайменше, одного з поліпептидів T2R, описаних у даній заявці, попарно зв'язаних з додатковими амінокислотами, що представляють інший GPCR або його частину, який переважно є членом суперродини білків, що містять 7 трансмембранних доменів. Описані химери можна одержати з рецепторів згідно даному винаходу та іншого GPCR, або їх можна створити, з'єднавши два або більше з представлених рецепторів. В одному варіанті здійснення, одна частина химерного білка відповідає, або її одержують із трансмембранного домену поліпептиду T2R згідно із даним винаходом. В іншому варіанті здійснення, одна частина химерного білка відповідає, або її одержують з одного або більше трансмембранних фрагментів поліпептиду T2R, описаного в даній заявці, а інша частина або частини можуть бути одержані з іншого GPCR. Химерні рецептори добре відомі в даній галузі, і також добре відомі методики для їх створення й селекції, а також границі доменів або фрагментів рецепторів, сполучених з G-білком (GPCR). Таким чином, фахівець у даній галузі

може застосувати ці знання для створення таких химерних рецепторів. Використання таких химерних рецепторів може забезпечити можливість, наприклад, охарактеризувати смакову специфічність одного з рецепторів, описаних у даній заявці, а також охарактеризувати передачу сигналу через інший рецептор, такий як добре відомий рецептор, що використовується у

5 способами аналізу відповідно до відомого рівня техніки.

[0219] Наприклад, така ділянка, як ділянка зв'язування ліганду, позаклітинний домен, трансмембранний домен, цитоплазматичний домен, N-термінальний домен, C-термінальний домен, або будь-яка їх комбінація, може бути ковалентно зв'язана з гетерологічним білком. Наприклад, трансмембранна область T2R може бути зв'язана із трансмембранною областю

10 гетерологічного GPCR, або позаклітинний домен гетерологічного GPCR може бути зв'язаний із трансмембранною областю T2R. Інші гетерологічні білки, серед яких можна робити вибір, включають, наприклад, зелений флуоресцентний білок, поліпептиди бета-галактозидази, глутаматний рецептор, і поліпептиди родопсину, наприклад, N-термінальні фрагменти родопсину, наприклад, родопсину бика.

15 [0220] Також даний винахід охоплює застосування різних клітин-хазяїнів для експресії T2R, їх фрагментів або варіантів згідно із даним винаходом. Для досягнення високих рівнів експресії клонуємого гена або нуклеїнової кислоти, такої як молекули кДНК, що кодують T2R, їх фрагменти або варіанти згідно із даним винаходом, фахівець у даній галузі у звичайному випадку проведе субклонування цільової послідовності нуклеїнових кислот у вектор експресії,

20 який містить сильний промотор для направлення транскрипції, термінатор транскрипції/трансляції, і, для нуклеїнової кислоти, що кодує білок, сайт зв'язування рибосоми для ініціації трансляції. Підходящі бактеріальні промотори добре відомі в даній галузі й описані, наприклад, в Sambrook et al. Переважно, для експресії рецептора hT2R, використовують системи експресії в еукаріотичних клітинах.

25 [0221] Для введення чужорідних послідовностей нуклеотидів у клітину-хазяїна можна застосовувати будь-який з добре відомих методів. Зазначені методи включають застосування кальці-фосфатної трансфекції, полібрену, злиття протопластів, електропорації, ліпосом, мікроін'єкцій, плазматичних векторів, вірусних векторів, й інші добре відомі методи внесення клонованої геномної ДНК, кДНК, синтетичної ДНК, або іншого чужорідного генетичного

30 матеріалу в клітину-хазяїна (див., наприклад, Sambrook et al.). Єдиною необхідною умовою є те, щоб конкретний процес генетичного конструювання дозволяв успішно внести, щонайменше, одну молекулу нуклеїнової кислоти в клітину-хазяїна, здатну експресувати T2R, його фрагмент або цільовий варіант.

[0222] Після введення вектора експресії в клітини, трансфіковані клітини культивують в умовах, сприятливих експресії рецептора, фрагмента, або цільового варіанта, який потім виділяють з культури за допомогою стандартних методик. Приклади таких методик добре відомі в даній галузі. Див., наприклад, WO 00/06593, поміщену в даний опис за допомогою посилання у відповідному відкриттю виді.

Способи Аналізу для детектування сполук, що модулюють Активність hT2R згідно із даним

40 винаходом

[0223] Нижче описані способи й композиції для визначення того, чи зв'язується специфічним чином тестуєма сполука з поліпептидом T2R згідно із даним винаходом *in vitro* або *in vivo*. Для вимірювання впливу зв'язування ліганду химерними T2R відносно природних, можна контролювати велику кількість аспектів фізіології клітин. Зазначені способи аналізу можна здійснювати з використанням інтактних клітин, експресуючих поліпептид T2R, клітин із

45 преамібілізованою мембраною, або на мембранних фракціях, одержаних стандартними методами.

[0224] Смакові рецептори зв'язують сполуки, що викликають відчуття смаку, й ініціюють перетворення хімічного збудника в електричні сигнали. Активовані або інгібовані G-білок буде, відповідно, змінювати властивості ферментів-мішеней, каналів та інших білків-ефекторів. Деякими прикладами є активація цГМФ фосфодіестерази трансдуцином у зоровій системі, аденілатциклази стимулюючим G-білком, фосфоліпази C Gq та іншими G-білками, і модуляція різних каналів Gi та іншими G-білками. Також можна оцінювати наслідки, такі як продукція

50 диацилгліцеролу та IP3 фосфоліпазою C, і, далі, мобілізація кальцію IP3.

[0225] Білки hT2R, що є об'єктами дослідження, зазвичай вибирають із поліпептидів, що мають послідовність, наведену в списку послідовностей у даному описі перед формулою, або її фрагменти або варіанти, одержані в результаті консервативних модифікацій.

[0226] Як альтернатива, білки або поліпептиди T2R для аналізу можна одержати з еукаріотичної клітини-хазяїна, і вони можуть містити послідовність амінокислот, що має певний відсоток ідентичності з приведеними поліпептидами hT2R, або їх консервативно

60 відсоток ідентичності з приведеними поліпептидами hT2R, або їх консервативно

модифікованими варіантами. Зазвичай, ідентичність послідовностей амінокислот становить щонайменше 30 %, переважно 30-40 %, більш переважно 50-60, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, або 99 %. Білки або поліпептиди T2R для аналізу можливо містять яку-небудь ділянку поліпептиду T2R, таку як позаклітинний домен, трансмембранний домен, цитоплазматичний домен, ділянку зв'язування ліганду і т.п. Можливо, наведений у даному описі як приклад поліпептид T2R, або його частина, може бути ковалентно зв'язаний(а) з гетерологічним білком з утворенням химерного білка, що використовується в способах аналізу, описаних у даній заявці.

[0227] Модулятори активності T2R можна аналізувати, з використанням білків або поліпептидів T2R, описаних вище, як рекомбінантних, так і природних. Білки або поліпептиди T2R можна виділяти, експресувати у клітинах, експресувати на мембрані, виділений з клітин, експресувати у культурі тканини або в організмі тварини, як рекомбінантний, так і природний. Наприклад, можна використовувати зрізи язика, клітини, виділені з язика, трансформовані клітини, або мембрани. Модуляцію можна аналізувати одним із способів аналізу *in vitro* або *in vivo*, описаних у даній заявці.

Детектування Модуляторів

[0228] Композиції й способи для визначення *in vitro* й *in vivo* того, чи зв'язує досліджувана сполука специфічним чином рецептор T2R згідно із даним винаходом, описані нижче. Для вимірювання зв'язування ліганди з поліпептидом T2R згідно із даним винаходом, можна контролювати багато фізіологічних параметрів клітини. Описані способи аналізу можна здійснювати на інтактних клітинах, експресуючих хемосенсорні рецептори, клітинах з пермеабілізованою мембраною, або на мембранних фракціях, одержаних стандартними методами, або *in vitro*, використовуючи білки, синтезовані *de novo*.

[0229] *In vivo*, смакові рецептори зв'язуються із сполуками, що модулюють смак, і ініціюють трансдукцію хімічних збудників в електричні сигнали. Активовані або інгібовані G - білок буде, відповідно, змінювати властивості ферментів-мішеней, каналів й інших ефекторних білків. Деякими прикладами є: активація цГМФ фосфодіестерази трансдукціоном у зоровій системі, аденілатциклази стимулюючим G-білком, фосфоліпази C Gq й іншими G-білками, і модуляція різних каналів Gi й іншими G-білками. Також можна аналізувати подальші наслідки по таких параметрах, як продукція діацилгліцеролу й IP3 фосфоліпазою C, і, далі, мобілізація кальцію IP3.

[0230] Як альтернатива, білки або поліпептиди T2R, застосовувані в аналізі, можна одержувати з еукаріотичних клітин-хазяїв, і вони можуть включати послідовність амінокислот, що має ідентичність по амінокислотах з поліпептидами T2R, описаними в даній заявці або з їх фрагментами, або варіантами, одержаними шляхом консервативної модифікації. Звичайно, ідентичність послідовностей амінокислот становить щонайменше від 35 до 50 %, або можливо, 75 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, або 99 %. Білки або поліпептиди T2R, застосовувані в способах аналізу, можуть складатися з домену білка T2R, такого як позаклітинний домен, трансмембранний домен, трансмембранна область, цитоплазматичний домен, ділянка зв'язування ліганди, та їм подібних. Далі, як описано вище, білок T2R або його домен можуть ковалентно зв'язуватися з гетерологічним білком з утворенням химерного білка, застосовуваного в способах аналізу, описаних у даній заявці.

[0231] Модулятори активності рецептора T2R досліджують, застосовуючи білки або поліпептиди T2R, як описано вище, як рекомбінантні, так і природного походження. Білки або поліпептиди T2R можна виділяти, експресувати у клітині, експресувати на мембрані, виділений з клітини, експресувати у тканині або організмі тварини, як рекомбінантний, так і природного походження. Наприклад, можна використовувати зрізи язика, клітини що виділені з язика, трансформовані клітини, або мембрани. Модуляцію можна досліджувати, застосовуючи один з описаних у даній заявці методів *in vitro* або *in vivo*.

Аналізи Зв'язування *In vitro*

[0232] Трансдукцію смаку також можна досліджувати *in vitro* в реакціях у твердій або рідкій фазі, використовуючи поліпептиди T2R згідно із даним винаходом. В одному варіанті здійснення, ділянка зв'язування ліганди T2R можна використовувати в реакціях *in vitro* у рідкій або твердій фазі для аналізу зв'язування ліганду.

[0233] Можливе одержання ділянки зв'язування ліганду із N-термінальної області з додатковими частинами позаклітинного домену, такими як позаклітинні петлі трансмембранного домену.

[0234] Також здійснювали аналіз зв'язування *in vitro* з іншими GPCR, такими як метаботропні глутаматні рецептори (див., наприклад, Han and Hampson, J. Biol. Chem. 274:10008-10013 (1999)). Такі Аналізи можуть включати внесення ліганду з радіоактивною або флуоресцентною

міткою, вимірювання змін у власній флуоресценції, або змін у протеолітичній чутливості тощо.

[0235] Зв'язування ліганду з поліпептидом T2R згідно із даним винаходом можна досліджувати в розчині, на двошаровій мембрані, можливо, іммобілізованій на твердій фазі, у ліпідному моношарі, або в ліпосомах. Зв'язування модулятора можна досліджувати шляхом вимірювання наприклад, зміни спектроскопічних (наприклад, флуоресценції, адсорбції, показника переломлення), гідродинамічних (наприклад, форми), хроматографічних характеристик, або властивостей розчинності.

[0236] У переважному варіанті здійснення винаходу, застосовують аналіз зв'язування [35S]GTPγS. Як описано вище, відносно активації GPCR, субодиниця Gα G-білка стимулюється з перетворенням ГДФ у ГТФ. Стимуляцію обмінної активності G-білка, опосередковану лігандом, можна вимірювати за допомогою біохімічних методів аналізу, шляхом оцінки зв'язування [35S]GTPγS з радіоактивною міткою й G-білка в присутності можливого ліганду. Зазвичай, мембрани, що містять цільовий хемосенсорний рецептор, змішують із G-білком. Потенційні інгібітори та/або активатори й [35S]GTPγS додають у реакційну суміш, і оцінюють зв'язування [35S]GTPγS з G-білком. Зв'язування можна оцінювати підрахунком сцинтиляційної рідини, або будь-якими іншими способами відомими в даній галузі, включаючи сцинтиляційний аналіз зближення (SPA). В інших способах аналізу можна використовувати GTPγS з міткою.

Флуоресцентний Поляризаційний Аналіз

[0237] В іншому варіанті здійснення, для детектування й контролю зв'язування ліганду можна застосовувати методи аналізу, засновані на флуоресцентній поляризації ("ФП"). Флуоресцентна поляризація є універсальною лабораторною методикою для вимірювання рівноважного зв'язування, гібридизації нуклеїнових кислот, і ферментативної активності. Флуоресцентний поляризаційний аналіз є гомогенним, тому що не вимагає етапу поділу, такого як центрифугування, фільтрація, хроматографія, преципітація або електрофорез. Цей аналіз проводять у реальному часі, безпосередньо в розчині і без стадії іммобілізації. Значення поляризації можна оцінювати повторно після додавання реагентів, тому що вимірювання поляризації відбувається швидко і не руйнує зразок. Загалом, ці методики можна застосовувати для вимірювання значень поляризації флуорофорів у діапазоні від низьких пікомолярних до мікромолярних рівнів. У даному розділі можливе застосування флуоресцентної поляризації в простому й кількісному аналізі зразка для оцінки зв'язування лігандів з поліпептидами T2R згідно із даним винаходом.

[0238] При порушенні молекули із флуоресцентною міткою за допомогою лінійно плоскополяризованого світла, вона випромінює світло, ступінь поляризації якої обернено пропорційний її молекулярному обертанню. Великі молекули із флуоресцентною міткою залишаються відносно стаціонарними в ході стадії збудження (у випадку флуоресцину, що дорівнює 4 наносекунди), і поляризація світла залишається відносно постійною при переході від збудження до випромінювання (емісії). Невеликі молекули із флуоресцентною міткою повільно обертаються в ході стадії збудження, і поляризація значно міняється при переході від збудження до випромінювання. Таким чином, невеликі молекули мають маленькі значення поляризації, а великі молекули мають великі значення поляризації. Наприклад, одноланцюговий олігонуклеотид з введеною в нього флуоресцентною міткою має відносно низьке значення поляризації, але при гібридизації з комплементарним ланцюгом, значення його поляризації збільшується. При застосуванні ФП для детектування й контролю зв'язування сполук, що викликають смакові відчуття, здатні активувати або інгібувати хемосенсорні рецептори згідно із даним винаходом, можна використати сполуки, що викликають смакові відчуття, із флуоресцентною міткою, або аутофлуоресцентні сполуки, що викликають смакові відчуття.

[0239] Флуоресцентну поляризацію (P) визначають наступним чином:

$$P = \frac{[Int_{par} - Int_{perp}]}{[Int_{par} + Int_{perp}]}$$

[0240] Де Int_{par} являє собою інтенсивність світла, випромінюваного паралельно площині збудливого світла, і Int_{perp} являє собою інтенсивність світла, випромінюваного перпендикулярно площині збудливого світла. P, що є відношенням інтенсивностей світла, являє собою безрозмірну величину. У комбінації з даним аналізом можна застосовувати, наприклад, Систему Beascope™ й Beascope 2000™. Такі системи зазвичай виражають поляризацію в одиницях міліполяризації (1 Одиниця Поляризації=1000 mP Одиниць).

[0241] Відношення між молекулярним обертанням і розміром описується рівнянням Перена, див. статтю Jolley, M. E. (1991) в Journal of Analytical Toxicology, pp. 236-240, включену в даний опис за допомогою посилання, у якій наведений опис даного рівняння. Коротенько, відповідно

до рівняння Перена, ступінь поляризації прямо пропорційна величині періоду релаксації, часу, який потрібен молекулі для обертання на кут приблизно в 68.5° . Період релаксації обертання пов'язаний з в'язкістю (η), абсолютною температурою (T), молекулярним об'ємом (V), і газовою постійною (R) наступним рівнянням: 2 (Період Релаксації обертання) = $3 V RT$.

5 [0242] Період релаксації обертання має маленькі значення (\sim наносекунд) для невеликих молекул (наприклад, для флуоресцину) і великі (~ 100 наносекунд) для великих молекул (наприклад, імуноглобуліни). Якщо в'язкість і температуру підтримують постійними, період релаксації обертання, і, відповідно, поляризація, прямо пропорційні розміру молекули. Зміни молекулярного об'єму можуть відбуватися через взаємодії з іншими молекулами, дисоціації, полімеризації, розпаду, гібридизації або конформоційних змін молекули із флуоресцентною міткою. Наприклад, флуоресцентну поляризацію застосовували для оцінки ферментативного розщеплення протеазами, ДНКазами й РНКазами великих полімерів із флуоресцентною міткою. Також її застосовували для оцінки рівноважного зв'язування при білок-білкових взаємодіях, взаємодіях антиген-антитіло, і взаємодіях білок-ДНК.

15 Високопродуктивні способи аналізу в Рідкій та у Твердій Фазі

[0243] У ще одному варіанті здійснення, запропонований аналіз у рідкій фазі із застосуванням поліпептиду T2R. В іншому варіанті здійснення згідно із даним винаходом запропонований високопродуктивний аналіз *in vitro* у твердій фазі, в якому поліпептид T2R, або клітину або тканину, експресуючу поліпептид T2R, закріплюють на твердофазному субстраті або сполуці, яка стимулює смак, і приводять у контакт із рецептором T2R, зв'язування визначають за допомогою відповідної мітки або антитіла до рецептора T2R.

20 [0244] Високопродуктивні способи аналізу згідно із даним винаходом забезпечують можливість здійснювати скринінг до декількох тисяч різних модуляторів або лігандів протягом одного дня. Зокрема, кожну лунку мікротитраційного планшета можна використовувати для проведення роздільних аналізів з обраним потенційним модулятором, або, якщо досліджують вплив концентрації або часу інкубації, можна досліджувати один модулятор у кожних 5-10 лунках. Таким чином, в одному стандартному мікротитраційному планшеті можна здійснювати аналіз приблизно 100 (наприклад, 96) модуляторів. Якщо використовують планшети з 1536 лунками, в одному планшеті можна з легкістю аналізувати від приблизно 1000 до, приблизно, 30 1500 різних сполук. Також можливо успішно здійснювати аналіз декількох сполук у кожній лунці планшета. Можливо здійснювати аналіз декількох планшетів на день; застосування інтегрованих систем згідно із даним винаходом забезпечує можливість здійснення скринінгу до приблизно 6,000-20,000 різних сполук. Пізніше були розроблені мікрорідинні підходи для маніпуляцій з реагентами.

35 [0245] Цільову молекулу можна приєднати до твердофазного компонента безпосередньо або опосередковано, за допомогою ковалентного або нековалентного зв'язку, наприклад, за допомогою мітки. Міткою може служити будь-який з великої кількості компонентів. Загалом, молекулу, що зв'язує мітку, закріплюють на твердій основі, і цільова молекула (наприклад, цільова молекула трансдукції смаку) з введеною в неї міткою зв'язується із твердим субстратом за допомогою взаємодії мітки й молекули, що зв'язує мітку.

40 [0246] Можна застосовувати ряд міток і молекул, що зв'язують мітку, ґрунтуючись на молекулярних взаємодіях, добре описаних у літературі. Наприклад, у випадку, якщо для мітки існує зв'язуюча молекула природного походження, наприклад, біотин, білок А, або G-білок, її можна використовувати разом з відповідними молекулами, що зв'язують мітку (авідин, стрептавідин, нейтравідин, Fc-фрагмент імуноглобуліну тощо). Антитіла до таких молекул, що мають природні зв'язуючі молекули, як біотин, також широко доступні, як і відповідні молекули, що зв'язують мітку (див., SIGMA Immunochemicals 1998 catalogue SIGMA, St. Louis Mo.).

45 [0247] Також, для одержання пари мітка/зв'язуюча мітку сполука, можна використовувати будь-яку сполуку гаптенної або антигенної природи в комбінації з відповідним антитілом. Тисячі специфічних антитіл є комерційно доступними, і багато інших антитіл описані в літературі. Наприклад, в одній зі звичайних конфігурацій, мітка є першим антитілом, а зв'язуюча мітку сполука являє собою друге антитіло, яке розпізнає перше антитіло. На додаток до взаємодій антиген-антитіло, взаємодії рецептор-ліганд також підходять як пари мітка/зв'язуюча мітку сполука. Прикладом є агоністи й антагоністи рецепторів мембрани клітини (наприклад, такі 50 взаємодії клітинний рецептор-ліганд, як трансферин, c-kit, ліганди вірусних рецепторів, цитокінові рецептори, рецептори хемокінів, рецептори інтерлейкінів, рецептори імуноглобулінів антитіла, родина кадгеринів, родина інтегринів, родина селектинів тощо; див., наприклад, Pigott & Power, The Adhesion Molecule Facts Book I (1993)). Аналогічно, з різними рецепторами клітин можуть взаємодіяти токсини й отрути, вірусні епітопи, гормони (наприклад, опіати, стероїди 60 тощо), внутрішньоклітинні рецептори (наприклад, що є медіаторами дії різних невеликих

лігандів, включаючи стероїди, тироїдний гормон, ретиноїди й вітамін D; пептиди), наркотики, лектини, цукри, нуклеїнові кислоти (як у лінійній, так й у циклічній полімерній конфігураціях), олігосахариди, білки, фосфоліпіди й антитіла.

[0248] Відповідні мітки або зв'язуюча мітку сполука також можуть бути одержані з синтетичних полімерів, таких як поліуретани, поліестери, полікарбонати, полісечовина, поліаміди, поліетиленіміни, поліариленсульфіди, полісілоксани, полііміди й поліацетати. Багато інших пар мітка/зв'язуюча мітку сполука також застосовуються в системах аналізу, описаних у даній заявці, як буде зрозуміло фахівцям в даній галузі з огляду даного відкриття.

[0249] Також як мішені можна застосовувати звичайні лінкери, такі як пептиди, прості поліефіри тощо, включаючи поліпептидні послідовності, такі як полігліцинові послідовності довжиною від приблизно 5 до приблизно 200 амінокислот. Такі гнучкі лінкери відомі фахівцям у даній галузі. Наприклад, полі(етиленгліколеві) лінкери доступні в Shearwater Polymers, Inc. Huntsville, Ala. Такі лінкери можуть містити амідні зв'язки, сульфгідрильні зв'язки, або гетерофункціональні зв'язки.

[0250] Зв'язуючу мітку сполуку імобілізують на твердих субстратах за допомогою будь-якого з великої кількості доступних на даний момент методів. Тверді субстрати зазвичай одержують або функціоналізують шляхом здійснення взаємодії субстрату цілком або його частини з хімічним реагентом, який фіксує хімічну групу на поверхні, що реагує із частиною зв'язуючої мітку сполуки. Приклади груп, що підходять для фіксації до довгого ланцюга, включають амінні, гідроксильні, тіольні, і карбоксильні групи. Для функціоналізування різних поверхонь, таких як поверхня скла, можна застосовувати аміноалкілсилани й гідроксиалкілсилани. Одержання таких твердофазних біополімерних структур добре описане в літературі. Див., наприклад, Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963) (що описує твердофазний синтез, наприклад, пептидів); Geysen et al., J. Immun. Meth., 102:259-274 (1987) (що описує синтез твердофазних компонентів на шпильках); Frank & Doring, Tetrahedron, 44:60316040 (1988) (що описує синтез різних послідовностей пептидів на целюлозних дисках); Fodor et al., Science, 251:767-777 (1991); Sheldon et al., Clinical Chemistry, 39(4):718-719 (1993); i Kozal et al., Nature Medicine, 2(7):753759 (1996) (всі перераховані вище матеріали описують синтез біополімерів, прикріплених до твердих субстратів). Нехімічні підходи до приєднання зв'язуючої мітку сполуки до субстратів включають звичайні методи, такі як нагрівання, утворення поперечних зшивок під дією УФ випромінювання тощо.

Клітинні Аналізи

[0251] В одному із переважних варіантів здійснення, білок T2R експресують в еукаріотичній клітині як у немодифікованій формі, так і у формі химерного, модифікованого або укороченого рецептора з або, переважно, без гетерологічної послідовності шаперона, що сприяє його дозріванню й націлюванню на секреторному шляху. Такі поліпептиди T2R можна експресувати у будь-якій еукаріотичній клітині, такій як клітини HEK-293. У переважному випадку клітини містять функціональний G-білок, наприклад, Gα15, або химерний Gα16, густдудин або трансдудин, або химерний G-білок, такий як G16gust44, здатний зв'язуватися з химерним рецептором внутрішньоклітинного сигнального шляху, або із сигнальним білком, таким як фосфоліпаза C. Активацію рецепторів T2R у таких клітинах можна визначати за допомогою будь-якого стандартного методу, такого як визначення змін у вмісті внутрішньоклітинного кальцію за допомогою FURA-2-залежної флуоресценції в клітині. Описаний аналіз є основою експериментальних результатів, представлених у даній заявці.

[0252] Активовані рецептори GPCR часто є субстратом для кіназ, фосфорилуючих C-кінцевий фрагмент рецептора (і можливо також, інші сайти). Таким чином, активатори сприяють перенесенню 32P з міченої АТФ на рецептор, який можна виміряти за допомогою сцинтиляційного лічильника. Фосфорилування C-термінального кінця буде сприяти зв'язуванню арестин-подібних білків, і буде перешкоджати зв'язуванню G-білків. Загальний огляд сигнальної трансдукції GPCR і способів аналізу сигнальної трансдукції наведений, наприклад, Methods in Enzymology, vols. 237 й 238 (1994) і volume 96 (1983); Bourne et al., Nature, 10:349:117-27 (1991); Bourne et al., Nature, 348:125-32 (1990); Pitcher et al., Annu. Rev. Biochem., 67:653-92 (1998).

[0253] Модуляцію T2R можна досліджувати шляхом порівняння відповіді поліпептидів T2R, оброблених передбачуваним модулятором T2R, з відповіддю неопрацьованого контрольного зразка або зразка, що містить відомий "позитивний" контроль. Такі можливі модулятори T2R можуть включати молекули, які або інгібують, або активують активність поліпептиду T2R. В одному варіанті здійснення, контрольним зразком, обробленим сполукою, що активує T2R, привласнюють відносне значення активності T2R, яке дорівнює 100. Інгібування поліпептиду T2R досягають, коли значення активності T2R відносно контрольного зразка дорівнює 90 %, можливо 50 %, можливо 25-0 %. Активації поліпептиду T2R досягають, коли значення

активності T2R відносно контролю дорівнює 110 %, можливо 150 %, 200-500 %, або 1000-2000 %.

[0254] Зміни в іонному потоці можна виміряти шляхом визначення змін у поляризації іонів (т.зв., електричному потенціалі) клітини або мембрани, що експресує поліпептид T2R. Одним із способів визначення змін у клітинній поляризації є вимірювання змін у силі струму (вимірювання змін у поляризації) за допомогою фіксації потенціалу методами реєстрації потенціалу (вольт-кламп) і петч-кламп (див., наприклад, метод "прикріпленої клітини", метод "навиворіт", і метод "цілої клітини", наприклад, Ackerman et al., *New Engl. J Med.*, 336:1575-1595 (1997)). Струми цілих клітин успішно вимірюють за допомогою стандарту. Інші відомі способи аналізу включають: дослідження мічених радіоактивним ізотопом іонних струмів за допомогою барвників, чутливих до електричної напруги (див., наприклад, Vestergaard-Bogind et al., *J. Membrane Biol.*, 88:67-75 (1988); Gonzales & Tsien, *Chem. Biol.*, 4:269-277 (1997); Daniel et al., *J. Pharmacol. Meth.*, 25:185-193 (1991); Holevinsky et al., *J. Membrane Biology*, 137:59-70 (1994)).

[0255] Вплив досліджуваних сполук на функції поліпептидів можна визначати шляхом оцінки будь-якого з параметрів, описаних вище. Для вимірювання впливу досліджуваної сполуки на поліпептиди згідно із даним винаходом можна вимірювати будь-яку підходящу фізіологічну зміну активності GPCR. При визначенні фізіологічних ефектів на інтактних клітинах або тваринах, також можна вимірювати такі ефекти, як секреція трансмітера, секреція гормонів, зміни транскрипції як з відомими, так і з не описаними генетичними маркерами (наприклад, аналіз методом Нозерн-блот), вимірювання в метаболізмі клітини, такі як ріст клітини й зміни pH, і зміни у вмісті внутрішньоклітинних вторинних месенджерів, таких, як Ca²⁺, IP₃, цГМФ або цАМФ.

[0256] Переважні способи аналізу на GPCR включають клітини, навантажені барвниками, чутливими до іонів або електричної напруги, для опису активності рецепторів. У способах аналізу по визначенню активності таких рецепторів також можна застосовувати відомі агоністи й антагоністи для інших парно зв'язаних з G-білком рецепторів як контроль для вимірювання активності досліджуваних сполук. У способах аналізу для ідентифікації модулюючих сполук (наприклад, агоністів, антагоністів) контролюють зміни в рівні іонів у цитоплазмі або електричній напрузі на мембрані за допомогою флуоресцентного індикатора, чутливого до іонів або електричної напруги на мембрані, відповідно. До індикаторів, чутливих до іонів, і зразків значень електричної напруги, які можна використовувати, відносяться наведені в *Molecular Probes 1997 Catalog*. Для рецепторів, парно зв'язаних з G-білком, в обраному способі аналізу можна використовувати випадкові G-білки, такі як Gα15 й Gα16 (Wilkie et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci.*, 88:10049-10053 (1991)). Як альтернатива, можна використовувати інші G-білки, такі як густдучин, трансдучин, і химерні G-білки, такі як Gα16gust44 або Galpha16t25.

[0257] Активація рецептора ініціює наступні внутрішньоклітинні події, наприклад, збільшення вмісту вторинних месенджерів. Активація деяких рецепторів, сполучених з G-білками, стимулює утворення інозитол трифосфату (IP₃) через гідроліз фосфатидилінозиту, опосередкованого фосфоліпазою C (Berridge & Irvine, *Nature*, 312:315-21 (1984)). IP₃, у свою чергу, стимулює вихід кальцію із внутрішньоклітинних сховищ. Таким чином, зміни в рівні іонів кальцію в цитоплазмі, або зміни рівнів вторинних месенджерів, таких як IP₃, можна використовувати для оцінки функцій рецепторів, сполучених з G-білками. Клітини, що експресують такі рецептори, сполучені з G-білками, можуть виявляти підвищені рівні цитоплазматичного кальцію, які є результатом виходу кальцію із внутрішньоклітинних депо і входу позаклітинного кальцію через іонні канали в плазматичній мембрані.

[0258] У переважному варіанті здійснення, активність поліпептиду T2R вимірюють по експресії гена T2R у гетерологічній клітині з яким-небудь G-білком, що зв'язує рецептор з шляхом передачі сигналу за участю фосфоліпази C (див. Offermanns & Simon, *J. Biol. Chem.*, 270:15175-15180 (1995)). Переважно, лінією клітин є HEK-293 (у нормі не експресують гени T2R), а G-білком є Gα15 (Offermanns & Simon, *supra*), або химерний G-білок, такий як Gα16gust44. Модуляцію передачі смакових сигналів досліджують шляхом вимірювання змін рівнів внутрішньоклітинного Ca²⁺, які відбуваються у відповідь на модуляцію шляху передачі сигналу T2R при введенні молекули, що зв'язується з поліпептидом T2R. Зміни рівнів Ca²⁺ можна вимірювати із застосуванням флуоресцентних барвників-індикаторів Ca²⁺ і методики одержання флуоресцентного зображення.

[0259] В іншому варіанті здійснення, проводять аналіз гідролізу фосфотидилінозиту (PI) відповідно до Пат. США № 5,436,128, включеного у даний опис за допомогою посилання. Коротко, аналіз включає введення в клітини мітки 3H-міоінозиту на 48 або більше годин. Клітини з введеною в них міткою обробляють досліджуваною сполукою протягом години. Оброблені клітини лизують і виділяють у водному розчині хлороформу-метанолу, після чого

інозитолфосфати відокремлюють методом іонообмінної хроматографії, і реєструють сцинтиляцію. Кратність стимуляції визначають шляхом розрахунку відношення *cpm* (імпульсів у хвилину) у присутності агоніста, до *cpm* у присутності буферного контролю. Аналогічним чином, кратність інгібування визначають шляхом розрахунку відношення *cpm* у присутності агоніста, до *cpm* у присутності буферного контролю (який може містити або не містити агоніст).

[0260] Інші способи аналізу рецепторів можуть включати визначення рівня внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, наприклад, цАМФ або цГМФ. У випадках, коли активація рецептора призводить до зниження рівнів циклічних нуклеотидів, може бути переважним піддавати клітини впливу агентів, які збільшують рівні внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, наприклад, форсколіну, перед додаванням сполуки, що активує рецептор, до досліджуваних клітин. В одному варіанті здійснення, зміни у внутрішньоклітинному вмісті цАМФ або цГМФ можна вимірювати за допомогою імунологічних аналізів. Для визначення рівня цГМФ можна застосовувати спосіб, описаний в Offermanns & Simon, *J. Bio. Chem.*, 270:15175-15180 (1995). Також, для визначення рівня цГМФ можна застосовувати метод, описаний Felley-Bosco et al., *Am. J. Resp. Cell and Mol. Biol.*, 11:159-164 (1994). Далі, набір для вимірювання рівнів цАМФ та/або цГМФ описаний у Пат. США № 4,115,538, включеному в даний опис за допомогою посилання.

[0261] В іншому варіанті здійснення, можна вимірювати рівні транскрипції для оцінки впливу досліджуваної сполуки на передачу сигналу. Клітину-хазяїна, що містить цільовий поліпептид T2R, приводять у контакт із досліджуваною сполукою на час, достатній для того, щоб вона здійснила вплив на взаємодії, а потім вимірюють рівень експресії гена. Час, достатній для здійснення впливу на будь-які взаємодії, може бути визначений емпірично, наприклад, шляхом визначення тимчасових залежностей і вимірювання рівня транскрипції залежно від часу. Рівень транскрипції можна вимірювати за допомогою будь-якого методу, відомого фахівцям у даній галузі. Наприклад, експресію цільового білка мРНК можна визначати методом Нозерн-блот, або можна ідентифікувати її поліпептидні продукти за допомогою імунологічних аналізів. Як альтернатива, можна застосовувати аналіз транскрипції з використанням репортерного гена, як описано в пат. США № 5,436,128, включеного в даний опис за допомогою посилання. Репортерні гени можуть являти собою, наприклад, гени хлорамфенікол ацетилтрансферази, люциферази, бета-галактозидази, бета-лактамази, і алкалінфосфатази. Далі, цільовий білок можна застосовувати як непрямий репортер за допомогою прикріплення до вторинного транспортера, такого як флуоресцентний білок (див., наприклад, Mistili & Spector, *Nature Biotechnology*, 15:961-964 (1997)).

[0262] Потім рівень транскрипції порівнюють із рівнем транскрипції в тій же клітині під час відсутності досліджуваної сполуки, або його можна порівнювати з рівнем транскрипції в приблизно ідентичній клітині, у якій відсутній(і) цільовий(і) поліпептид(и). Власне кажучи ідентичну клітину можна одержати з тих же клітин, з яких одержують рекомбінантну клітину, але не модифікованих включенням гетерологічної ДНК. Будь-яке розходження в рівні транскрипції показує, що досліджувана сполука в якомусь ступені змінює активність цільового поліпептиду T2R.

Трансгенні Тварини, відмінні від людини, в організмі яких експресуються хемосенсорні рецептори

[0263] Тварини (що не відносяться до виду людей), в організмі яких експресується одна або більше послідовностей рецепторів згідно із даним винаходом, також можуть бути використані для рецепторів у способах аналізу з використанням рецепторів. Таку експресію можна застосовувати для визначення, чи зв'язується досліджувана сполука специфічним чином із трансмембранним комплексом смакового рецептора ссавців *in vivo*, шляхом приведення в контакт організму тварини (що не є людиною), стабільно або тимчасово трансфікованого нуклеїновими кислотами, що кодуєть хемосенсорні рецептори або ділянку зв'язування ліганду зазначених рецепторів з досліджуваною сполукою, і визначення, чи реагує тварина на досліджувану сполуку специфічним зв'язуванням з поліпептидним комплексом рецептора.

[0264] Тварини, трансфіковані або інфіковані векторами згідно із даним винаходом, особливо корисні для способів аналізу для ідентифікації й дослідження смакових стимулів, здатних зв'язуватися зі специфічними сайтами рецепторів. Такі тварини, інфіковані вектором, що експресує послідовності смакових рецепторів людини, можуть бути корисні в скринінгу *in vivo* смакових стимулів та їх впливу, наприклад, на клітинну фізіологію (наприклад, на смакові нейрони), на ЦНС, на поведінку.

[0265] Засоби для інфікування/експресії нуклеїнових кислот і векторів, як індивідуально, так в складі бібліотек, добре відомі в даній галузі. Велику кількість параметрів окремих клітин, органів, або цілих організмів тварини, можна вимірювати різноманітними засобами.

Послідовності T2R згідно із даним винаходом можна, наприклад, експресувати у смакових тканинах тварини, за допомогою введення інфекційного агента, наприклад, аденовірусного експресійного вектора.

[0266] Гени ендогенного смакового рецептора можуть зберігати функціональну активність дикого типу. В інших випадках, коли бажано, щоб вся функціональна активність рецептора була повідомлена йому введеним екзогенним гібридним рецептором, переважно використовувати лінію з нокаутом. Способи створення трансгенних тварин (що не відносяться до виду людей), зокрема трансгенних мишей, а також селекції й створення рекомбінантних конструкцій для одержання трансформованих клітин, добре відомі в даній галузі.

[0267] Конструювання "нокаутної" клітини й тварини ґрунтується на припущенні, що рівень експресії певного гена в клітині ссавця можна знизити або повністю виключити експресію шляхом введення в геном нової послідовності ДНК, що служить для переривання частини послідовності ДНК, яку потрібно придушити. "Вставка генної пастки" також може бути застосована для руйнування гена хазяїна, а для одержання "нокаутних" трансгенних тварин можна застосовувати стовбурні клітини ембріона миші (ES) (див., наприклад, Holzschu, Transgenic Res 6:97-106 (1997)). Вставку екzogена звичайно здійснюють за допомогою гомологічної рекомбінації між комплементарними нуклеотидними послідовностями. Екзогенна послідовність являє собою частину гена-мішені модифікації, таку як екзон, інтрон або послідовності, що регулюють транскрипцію, або будь-яка послідовність генома, здатна вплинути на рівень експресії генів-мішеней, або їх комбінація. Націлювання на гени за допомогою гомологічної рекомбінації в поліпотентних стовбурних клітинах зародка дозволяє модифікувати цільову послідовність генома з великою точністю. Для створення, скринінга, розведення "нокаутних" тварин можна застосовувати будь-яку методику, див., наприклад, Bijvoet, Hum. Mol. Genet. 7:53-62 (1998); Moreadith, J. Mol. Med. 75:208-216 (1997); Tojo, Cytotechnology 19:161-165 (1995); Mudgett, Methods Mol. Biol. 48:167-184 (1995); Longo, Transgenic Res. 6:321-328 (1997); Пат. США № 5,616,491; 5,464,764; 5,631,153; 5,487,992; 5,627,059; 5,272,071; WO 91/09955; WO 93/09222; WO 96/29411; WO 95/31560; WO 91/12650.

[0268] Нуклеїнові кислоти згідно із даним винаходом також можна використовувати як реагенти для одержання "нокаутних" клітин людини, і їх прогенів. Подібним чином, нуклеїнові кислоти згідно із даним винаходом можна використовувати як реагенти для одержання "продуктів активації" (knock-in) у миші. Ортологи T2R у геномі миші можна замінити на T2R людини або пацюка. Таким чином одержують мишу, експресуючу T2R людини або пацюка. Потім таку мишу можна використовувати для аналізу функції T2R людини й пацюка, та ідентифікувати ліганди для таких T2R.

Модулятори

[0269] Сполуки, які тестують як модулятори рецептора родини T2R, можуть являти собою будь-яку невелику хімічну сполуку, або біологічний об'єкт, такий як білок, цукор, нуклеїнова кислота або ліпід. Як альтернатива, модулятори можуть бути генетично модифікованими варіантами члена родини T2R. Зазвичай, тестуємі сполуки являють собою невеликі хімічні молекули або пептиди. У принципі, як потенційний модулятор або ліганд у способах аналізу згідно із даним винаходом можна використовувати будь-яку хімічну сполуку, хоча, найчастіше, використовують сполуки, розчинені у водному або органічному (особливо, на основі DMSO) розчинниках. Може бути розроблений аналіз для скринінгу великих хімічних бібліотек шляхом автоматизації етапів аналізу і забезпечення сполук, одержаних з будь-якого підходящого джерела, для тестів, зазвичай проведених у паралелях (наприклад, у мікротитраційних форматах або мікротитраційних планшетах у роботизованих аналізах). Фахівцям в даній галузі зрозуміло, що існує багато постачальників хімічних сполук, включаючи Sigma (St. Louis, Mo.), Aldrich (St. Louis, Mo.), Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo.), Fluka Chemika-Biochemica Analytika (Buchs, Switzerland) тощо.

[0270] В одному варіанті здійснення, способи високопродуктивного скринінгового аналізу включають забезпечення комбінаторної бібліотеки хімічних речовин або пептидів, що містить велику кількість потенційних терапевтичних сполук (потенційні модулятори або ліганди). Такі "комбінаторні хімічні бібліотеки" або "бібліотеки лігандів" потім піддають скринінгу в одному або більше способах аналізу, описаних у даній заявці, для ідентифікації членів бібліотеки (окремі види або підкласи хімічних сполук), що мають цільову активність. Сполуки, ідентифіковані таким чином, можуть служити звичайними "ведучими сполуками", або їх можна використовувати як потенційні або справжні продукти споживання.

[0271] Комбінаторна бібліотека хімічних речовин являє собою колекцію різних хімічних сполук, одержаних як за допомогою хімічного синтезу, так і за допомогою біологічного синтезу, шляхом комбінування ряду хімічних "будівельних блоків", таких як хімічні сполуки. Наприклад,

лінійну комбінаторну хімічну бібліотеку, таку як бібліотека поліпептидів, одержують шляхом об'єднання ряду хімічних "будівельних блоків" (амінокислот) будь-яким можливим способом, з одержанням сполук заданої довжини (тобто, числом амінокислот у поліпептиді). Шляхом такого комбінаторного змішування хімічних "будівельних блоків" можна синтезувати мільйони хімічних сполук.

[0272] Одержання й скринінг комбінаторних хімічних бібліотек широко відомі фахівцям у даній галузі. Такі комбінаторні хімічні бібліотеки включають, але не обмежуються, пептидними бібліотеками (див., наприклад, Патент США № 5,010,175, Furka, Int. J. Pept. Prot. Res., 37:487-93 (1991) і Houghton et al., Nature, 354:84-88 (1991)). Також для створення комбінаторних хімічних бібліотек можна використовувати інші хімічні сполуки. Такі хімічні сполуки включають, але не обмежуються наступними: пептоїди (наприклад, WO 91/19735), кодовані пептиди (наприклад, WO 93/20242), випадкові біо-олігомери (наприклад, WO 92/00091), бензодіазепіни (наприклад, Патент США № 5,288,514), диверсомери (diversomers), такі як гідантоїни, бензодіазепіни й дипептиди (Hobbs et al., PNAS., 90:6909-13 (1993)), вінілогічні поліпептиди (Hagihara et al., J. Amer. Chem. Soc., 114:6568 (1992)), небілкові пептидоміметики із глюкозним каркасом (Hirschmann et al., J. Amer. Chem. Soc., 114:9217-18 (1992)), аналогічні органічні комбінації невеликих бібліотек сполук (Chen et al., J. Amer. Chem. Soc., 116:2661 (1994)), олігокарбамати (Cho et al., Science, 261:1303 (1993)), пептидилфосфонати (Campbell et al., J. Org. Chem., 59:658 (1994)), бібліотеки нуклеїнових кислот (Ausubel, Berger, Sambrook, all, див. вище), бібліотеки нуклеїнових кислот, що кодують пептиди (Пат. США № 5,539,083), бібліотеки антитіл (Vaughn et al., Nature Biotechnology, 14(3):309-14 (1996) і PCT/US96/10287), бібліотеки карбогідратів (Liang et al., Science, 274:1520-22 (1996) і Пат. США № 5,593,853), бібліотеки невеликих органічних молекул (бензодіазепіни, Baum, C&EN, Jan 18, page 33 (1993); тіазолідинони й метатіазолідинони, Пат. США № 5,549,974; піролідіни, Пат. США № 5,525,735 й 5,519,134; сполуки на основі морфоліну, Пат. США № 5,506,337; бензодіазепіни, 5,288,514 тощо).

[0273] Обладнання для створення комбінаторних бібліотек, комерційно доступне (див., наприклад, 357 MPS, 390 MPS (Advanced Chem Tech, Louisville Ky.), Symphony (Rainin, Woburn, Mass.), 433A (Applied Biosystems, Foster City, Calif.), 9050 Plus (Millipore, Bedford, Mass.)). На додаток, комерційно доступні декілька комбінаторних бібліотек (див., наприклад, ComGenex, Princeton, N.J.; Tripos, Inc., St. Louis, Mo.; 3D Pharmaceuticals, Exton, Pa.; Martek Biosciences; Columbia, Md.; etc.).

[0274] Відповідно до одного аспекту даного винаходу, модулятори T2R можна застосовувати в будь-якому харчовому продукті, кондитерському виробі, фармацевтичній композиції, або в їх інгредієнтах для спрямованого модулювання смаку продукту, композиції, або інгредієнта. Наприклад, модулятори T2R, що підсилюють відчуття гіркого смаку, можна додавати з доданням гіркого смаку продукту або композиції, у той час, як модулятори T2R, що інгібують відчуття гіркого смаку, можна додавати для блокування гіркого смаку продукту або композиції. Також, згідно із даним винаходом, запропоновані способи ідентифікації гірких сполук у харчових продуктах, напоях і медикаментах, і одержання продуктів, напоїв і медикаментів з покращеним смаком, у яких відсутня або послаблена ця якість.

Застосування сполук, ідентифікованих згідно із даним винаходом

[0275] Сполуки, ідентифіковані згідно із даним винаходом, можна додавати в харчові продукти, напої, косметичні або медичні композиції для модулювання, переважно, блокування, гіркого смаку, що викликається активацією, щонайменше, одного з: hT2R8 та/або hT2R14 гіркою сполукою, що є присутньою у каві й родинних каві продуктах, напоях і медикаментах, або структурно близькими до них сполуками, або іншими гіркими сполуками, наприклад, сполуками, присутніми в харчових продуктах і напоях, або медикаментах і косметиці, що викликають відчуття гіркого смаку.

[0276] Зокрема, Сполука С, та її аналоги, завдяки їх властивостям антагоніста широкого спектра дії, можна використовувати як добавку в харчових продуктах, напоях, медикаментах, або іншій сполуці, призначеній для вживання людиною й тваринами, гіркий смак яких бажано пом'якшити. З огляду на властивості даної Сполуки С, зазначені сполуки можуть містити гіркі ліганди, що взаємодіють з рецепторами гіркого смаку, такими, як hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65, або 71 та/або з hT2R5, 9, 13, 54, 67 й 75, або їх комбінацію, або вони можуть містити гіркі сполуки, рецептори гіркого смаку до яких не встановлені. Особливо переважними варіантами застосування є сполуки, що активують декілька рецепторів гіркого смаку.

[0277] Крім того, сполуки згідно із даним винаходом, включаючи Сполуку С, можна застосовувати в аналізах конкурентного зв'язування і у функціональних аналізах, а також у тестуванні в смакових пробах, для ідентифікації гірких сполук, гіркий смак яких блокує або інгібує Сполуку С.

[0278] Як було зазначено вище, бажано, щоб здатність сполуки, ідентифікованої в клітинних аналізах з T2R згідно із даним винаходом, модулювати смак, переважно, блокувати гіркий смак, була підтверджена за допомогою смакової проби за участю людини або тварини, переважно, у смаковій пробі за участю людини.

5 Набори

[0279] Гени T2R та їх гомологи є корисними інструментами для ідентифікації клітин смакових рецепторів, у криміналістиці й при визначенні батьківства, а також для досліджень смакової сигналізації. Реагенти, специфічні до членів родини T2R, які специфічним чином гібридизуються з нуклеїновими кислотами T2R, такі, як проби й праймери T2R, і реагенти, специфічні до T2R, які специфічним чином зв'язуються з білком T2R, наприклад, антитіла до T2R, застосовують для досліджень експресії смакових клітин і регуляції передачі смакових відчуттів (смакової сигналізації).

[0280] Засоби (способи) аналізу нуклеїнових кислот на присутність у зразку ДНК і РНК члена родини T2R включають численні методики, відомі фахівцям у даній галузі, такі як Саузерн-аналіз, Нозерн-аналіз, метод дот-блотінга, захист від РНКаз, аналіз S1, методики ампліфікації, такі як ПЛР, і гібридизація *in situ*. У методі гібридизації *in situ*, наприклад, нуклеїнову кислоту, що є мішенню, звільняють від її клітинного оточення таким чином, щоб вона була доступна для гібридизації усередині клітини, зберігши при цьому морфологію клітини для наступних досліджень й аналізів. Наведені нижче статті містять огляд по гібридизації *in situ*: Singer et al., *Biotechniques*, 4:230250 (1986); Haase et al., *Methods in Virology*, vol. VII, 189-226 (1984); і Names et al., eds., *Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach* (1987). На додаток, рекомбінантний білок T2R можна детектувати за допомогою різних методів імунологічного аналізу, описаних вище. Досліджуваний зразок звичайно порівнюють як з позитивним контролем (наприклад, зі зразком, що експресує рекомбінантний білок T2, так і з негативним контролем.

[0281] Згідно із даним винаходом також запропоновані набори для скринінга модуляторів рецепторів родини T2R. Такі набори можна виготовити з вже доступних матеріалів і реагентів. Наприклад, такі набори можуть включати будь-які з наступних матеріалів, а також інші матеріали: нуклеїнові кислоти й білки T2R, пробірки для реакцій, інструкції з дослідження активності T2R. Наприклад, набір включає функціональний поліпептид T2R. Згідно із даним винаходом можна виготовити широкий спектр наборів і компонентів, залежно від задач користувача і його конкретних потреб.

[0282] Слідом за загальним описом винаходу, більш повне розуміння інформації забезпечують наступні приклади, включені в даний опис як ілюстрація, і розглянуті не як обмежуючі. Очевидно, що в описані в даній заявці приклади варіантів здійснення винаходу можна вносити різні модифікації й зміни, без відхилення від ідеї й об'єму винаходу.

35 Приклади

Приклад 1

hT2R8 й hT2R14 активуються гіркою фракцією кави

[0283] Для скринінгу 25 T2R людини в тимчасово трансфікованих клітинах НЕК застосовували частково очищену фракцію кави, як описано в попередніх заявках на патент. Коротко, (більш детальний опис див. у публікації заявки на патент США № 2003/0170608, включений в даний опис за допомогою посилання), клітини первинної нирки (мезонефросу) людини, що стабільно експресують великий Т-клітинний антиген і білок G15 10(НЕК-G15) тимчасово трансфікували експресійною плазмідом hT2R (наприклад, використовуючи фосфат Ca²⁺ або системи, основані на ліпідах). Додатково, інші лінії клітин НЕК-G15 тимчасово трансфікували іншими T2R людини. Потім застосовували флуоресцентний аналіз для визначення змін у концентраціях кальцію в тимчасово трансфікованих клітинах. Взаємодія тестуємої сполуки (сполук) із трансфікованими клітинами викликає стимуляцію сигнального каскаду, що призводить до активації PLC і наступного зростання концентрації внутрішньоклітинного кальцію, що призводить до виникнення флуоресценції, яку реєстрували за допомогою флуоресцентного барвника, чутливого до кальцію. Зазначені зміни відслідковували, використовуючи, наприклад, флуоресцентну мікроскопію й відповідне програмне забезпечення (таке, як Imaging Workstation, Axon).

[0284] Фракція кави має високий рівень флуоресценції, що заважало проведенню аналізу. Для подолання даних перешкод, протестували декілька синіх барвників на здатність блокувати флуоресценцію фракції кави. Як показано на Фіг.1, фракція кави активувала hT2R8 й hT2R14 у кальцій-залежному аналізі з використанням тимчасово трансфікованих клітин. В експерименті, який ілюструє Фіг. 1, використовували синій барвник FD&C 1 при концентрації 1.9 мМ. З'ясували, що ця фракція кави активує також декілька інших hT2R. При використанні різних синіх барвників активувалися різні комбінації hT2R (Таблиця 1). Проте, hT2R8 й hT2R14 вважають стабільно

реагуючими на фракцію кави, і активності цих двох рецепторів залежать від кількості фракції кави (Фіг. 2). В експерименті, що ілюструє Фіг. 2, використовували синій барвник трипановий синій.

Таблиця 1

hT2R, активовані фракцією кави, з різними синіми барвниками

Синій Барвник	Ідентифіковані Рецептори hT2R	
	Активувалися	Слабо активувалися
FD&C 1	8, 14	---
Трипановий	1, 8, 14	10, 75
Кумасі	14	---

5

[0285] При застосуванні даного способу аналізу, було виявлено, що додавання гіркої фракції з кави до клітин, експресуючим hT2R8 й hT2R14, активувало внутрішньоклітинні G-білки. При застосуванні того ж способу аналізу, гірка фракція кави, навпаки, не активувала клітини HEK-G15, які тимчасово трансфікували іншими hT2R. Цей експеримент підтверджує висновок про те, що смакові рецептори hT2R8 й hT2R14 специфічним чином реагують на гірку(гіркі) сполуку(сполуки), присутні в каві.

Приклад 2

Ідентифікація антагоністів hT2R8 й hT2R14

[0286] Для ідентифікації антагоністів, були створені лінії клітин, що стабільно експресують hT2R8 й hT2R14, відповідно, разом із проміскуїтетним химерним білком G16g44, як описано в попередніх заявках на патент. Провели високопродуктивний аналіз із використанням стабільних ліній клітин і пристрою FLIPR (Fluorescent Imaging Plate Reader). Для активації рецепторів до 70-80 % їх відносної максимальної активності застосовували антагоніст hT2R8 або hT2R14. Антагоніст для hT2R8 являв собою андрографолід (200 мМ); а антагоніст hT2R14м являв собою аристоксієву кислоту (3мМ). Для ідентифікації антагоністів додавали сполуки з різною хімічною структурою разом з агоністом. Сполуки, які викликали статистично значиме зниження активності рецептора, поєднували й підтверджували результати за допомогою кривих інгібування, що відбивають залежність від дози. Сполуку А і Сполуку В ідентифікували як антагоністи hT2R8 (Фіг. 3). Сполуку С ідентифікували як антагоніст hT2R14 (Фіг. 4).

Приклад 2а

Комбінації антагоністів hT2R8 й hT2R14 послабляють гіркий смак кави

[0287] Проводили смакові проби з комбінаціями антагоністів hT2R8 й hT2R14 у фракції кави і двох видах розчинної кави (середнього ступеня обсмажування та обсмаженої до середньо-темного стану), використовуючи метод вимушеного вибору з 2 альтернативними варіантами на панелі смаків за участю 4-5 дегустаторів. Зразки кави з антагоністами давали дегустаторам смаку разом з тим же зразком без антагоністів, дегустаторів просили визначити більш гіркий зразок у парі. Як показано в Таблиці 2, дегустатори щоразу визначали зразки фракції кави без антагоністів як більш гіркі, ніж зразки з антагоністами, що говорить про те, що антагоністи знижували гіркий смак у фракції кави. Також, як показано в Таблиці 3, антагоністи знижували гіркий смак обох видів розчинної кави.

[0288] Як було показано за допомогою смакової проби із цього прикладу, відчуття гіркоти в композиціях (наприклад, у харчових продуктах, напоях, та/або медикаментах), що проявляється як гіркий смак, можна пом'якшити або усунути шляхом внесення в такі композиції антагоністів hT2R8 та/або hT2R14.

[0289] Для визначення внеску окремого антагоніста, проводили смакові проби зі середньо-обсмаженою кавою із Сполукою С. Як показано в Таблиці 4, антагоніста hT2R14 (Сполуки С) досить для зниження гіркого смаку кави в цьому прикладі.

Таблиця 2

Результати смакової проби із фракцією кави й 2 різними комбінаціями антагоністів

Проба	Антагоніст		Концентрація (мМ)	Обрана як гірка сполука		Р об'єму
	hT2R8	hT2R14		Без антагоніста	3 антагоністом	
1	Спол.А	Спол.С	30	32	0	<0.001
2	Спол.В	Спол.С	30	15	1	0.001
3	Спол.А	Спол.С	10	16	0	<0.001

Таблиця 3

Результати смакової проби з 2 видами розчинної кави

Розчинна Кава	Антагоніст		Концентрація (мМ)	Обрана як гірка сполука		Р об'єму
	hT2R8	hT2R14		Без антагоніста	3 антагоністом	
Середня	Спол.А	Спол.С	30	16	0	<0.001
Середньо-темна	Спол.А	Спол.С	30	13	3	0.021

Таблиця 4

Результати смакової проби із середньо обсмаженою кавою й індивідуальним антагоністом

Смакова Проба	Антагоніст	Концентрація (мМ)	Обрана як гірка сполука		Р об'єму
			Без антагоніста	3 Антагоністом	
1	Сполука С	50	18	2	<0.001
2	Сполука С	25	19	1	<0.001

Сполука С є антагоністом рецептора гіркого смаку широкого спектра дії

[0290] Наведений вище Приклад 2 показує, що Сполука С є антагоністом T2R людини, як було встановлено за допомогою високопродуктивного скринінгового аналізу з використанням hT2R14. Додаткові експерименти виявили, що Сполука С є антагоністом широкого спектра дії для 13 T2R людини, і антагоністом більш вузького спектра дії для 6 інших T2R людини. Більше того, у смаковій пробі ця сполука блокує інтенсивність гіркого смаку, що викликається рядом різних гірких субстанцій.

[0291] Зокрема, для оцінки селективності інгібування Сполуки С, цю сполуку тестували з 22-а T2R людини, ліганди для яких були визначені Senomux. Про ці рецептори й гіркі ліганди, що активують ці T2R людини, розповідалося в попередніх заявках на патент, включених у даний опис за допомогою посилання. Цими 22-а T2R людини є hT2R1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 44, 51, 54, 55, 61, 63, 64, 65, 67, 71 й 75. Послідовності амінокислот і нуклеїнових кислот всіх зазначених T2R можна знайти в більш ранніх заявках на патент. Ці T2R людини, кожен індивідуально, тимчасово трансфікували в клітини HEK29, стабільно експресуючі проміскуптетний G-білок G16g44, і з використанням цих рецепторів здійснювали функціональні аналізи, як описано в тих самих заявках на патент. У цих експериментах кожен рецептор активували одним з лігандів, обраним з гірких молекул, описаних раніше, для активації конкретного T2R. Ліганди використовували при рівнях концентрації EC80. Список використаних гірких лігандів і концентрації досліджених лігандів наведені в Таблиці 5 у даному прикладі.

[0292] Далі, для підтвердження активності сполуки *in vitro* в аналізі рецепторів, винахідники проводили парне порівняння смакових проб для визначення впливу сполуки *in vivo*. Дегустаторів просили спробувати на смак гіркі субстанції з або без Сполуки С, і визначити, який зі зразків більш гіркий. Кожен дегустатор тестував декілька пар, що забезпечило збільшення вибору, і результати аналізували за допомогою відповідних статистичних методів. Порядок зразків із Сполукою С і без неї був рандомізований й урівноважений.

[0293] Для того, щоб переконатися в широкому спектрі антагоністичних властивостей сполуки, її тестували на здатність блокувати гіркий смак, що викликається різними гіркими лігандами, а також гіркий смак, що викликається гіркими лігандами, здатність яких до активації множинних рецепторів гіркого смаку відома, і гіркими лігандами, що не демонстрували здатність активувати конкретні hT2R. Досліджували декілька гірких молекул, здатність яких активувати рецептори гіркого відома, активація для яких інгібується Сполукою С. Зокрема, саліцин є гіркою молекулою, що активує hT2R16, і смакова проба показала, що Сполука С у концентрації 40 мМ може знижувати її гіркий смак. Фенілтіосечовина є гіркою молекулою, що активує hT2R51, і Сполука С знижувала її гіркий смак у концентрації 25 мМ.

[0294] Декілька гірких молекул, здатних активувати множинні T2R, подібним же чином тестували із Сполукою С. Активацію рецепторів гіркого смаку для деяких із цих молекул частково інгібувала Сполука С. Омепазол є гіркою молекулою, що активує hT2R10, 14 і 75. Незважаючи на те, що його гіркий смак можливо опосередковують множинні рецептори гіркого, його гіркий смак також відчутно знижувала Сполука С. Ребаудіозид А є природним підсолоджувачем із сильним гірким смаком, який активує, щонайменше 7 T2R людини. Його гіркий смак також знижувала Сполука С.

[0295] Додатково, Сполука С інгібувала гіркий смак для деяких сполук, рецептори до яких невідомі, таких як декстрометорфан і дифенілгідрамін. Досліджували вплив Сполуки С на ці сполуки, і з'ясували, що їх гіркий смак також знижувався.

[0296] У зв'язку з наведеними вище даними, Фігура 5 містить результати експериментів, в яких Сполуку С тестували з різними сполуками-антагоністами. Активність інгібування представлена зниженням активності рецептора в присутності Сполуки С. Фігура 5 демонструє, що 13 різних hT2R у значній мірі (більше 30 %) інгібувались Сполукою С. Цими 13 hT2R є hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65, і 71. Шість інших рецепторів, включаючи hT2R5, 9, 13, 54, 67 й 75 також інгібувались, але в меншому ступені.

Таблиця 5

Список лігандів і концентрацій, використаних для кожного дослідженого T2R

hT2R	Агоніст	Концентрація
1	Пікринова Кислота	0.05мМ
3	Хлорохін pH6.5	50мМ
4	Хлорохін pH6.5	5мМ
5	Піколін	10мМ

Продовження таблиці 5

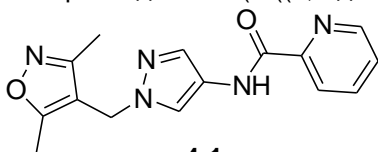
hT2R	Агоніст	Концентрація
7	Хлорохін рН6.5	10мМ
8	Андрографолід	0.5мМ
9	Офлоксацин	1мМ
10	Стрихнін	50мМ
13	Оксифенон	1мМ
14	Аристолохієва Кислота	2мМ
16	Саліцин	1мМ
44	Денатоніум	0.5мМ
51	Прор	2.5мМ
54	Ранітидін	5мМ
55	Цинхонін	150мМ
61	Аристолохієва Кислота	25мМ
63	Кофеїн	1мМ
63	Андрографолід	100мМ
64	Аристолохієва Кислота	1мМ
65	Олеуропеїн	1мМ
67	Андрографолід	5мМ
71	Пікринова Кислота	10мМ
75	Стрихнін	1мМ

Приклад 4

Антагоністи hT2R8: Одержання сполук відповідно до винаходу

5 Типові сполуки відповідно до винаходу синтезують наступним чином.

Приклад 4-1: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)піколінамід.



4-1

[0297] 1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1a) (400 мг, 2.1 ммоль), піколінову кислоту (256 мг, 2.1 ммоль) і HOBt (388 мг, 2.50 ммоль) змішували в ДХМ (7 мл). Реакційну суміш обробляли триетиламіном (670 мл, 4.8 ммоль) і перемішували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Додавали EDC (1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід) (598 мг, 3.1 ммоль) і реакційну суміш перемішували протягом додаткових 4 годин. Потім реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (5 мл) і промивали водним насиченим розчином NaHCO₃ (5 мл, 2x) і потім водним насиченим розчином NaCl (5 мл). Органічну фазу збирали, сушили й фільтрували. Розчинники видаляли під вакуумом. Неочищений продукт повторно суспендували в EtOH (5 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5 %-95 % ацетонітрил в H₂O: 25 хвилин). Чисті фракції поєднували й концентрували з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)піколінамід (372 мг, 60 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.21 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 7.49-7.47 (m, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.93-7.88 (dt, J=14, 2 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.24-8.21 (d, J=8 Hz, 1H), 8.61-8.56 (m, 1H), 9.83 (bs, 1H). PX/MC; [M+H]⁺ розраховано для C₁₅H₁₅N₅O₂; очікуване значення 297.1; експер. 298.3. Температура плавлення: 135-137 °C.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R8 складала 0.57 мкМ.

Приклад 4-1a: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид

25 Трет-бутил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-ілкарбамат (приклад 4-1b) (592 мг, 2 ммоль) перемішували в розчині 4N HCl у діоксані (20 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску, і залишок переносили в суміші 1/1 етилацетат/гексан (30 мл) і концентрували (двічі). Тверду речовину розтирали в порошок з гексаном і збирали за допомогою фільтрування, одержуючи 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (500 мг, 99 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 5.16 (s, 2H), 7.51 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 10.27 (bs, 3H).

Приклад 4-1b: трет-бутил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-ілкарбамат

3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-піразол-1-іл)метил)ізоксазол (приклад 4-1с) (14.6 г, 66 ммоль), Вос ангідрид і 10 % Pd/C (3.8 г) перемішували в MeOH (400 мл) при 1 атмосфері H₂ протягом 16 годин при температурі навколишнього середовища. Суміш фільтрували, і розчин видаляли при зниженому тиску. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (20 % етилацетат у гексані) з одержанням трет-бутил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-ілкарбамату (12.7 г, 66 %) у виді ясно-рожевої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.41 (s, 9H), 2.10 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.90 (s, 2H), 6.19 (bs, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.50 (s, 1H). MS 293 (M⁺).

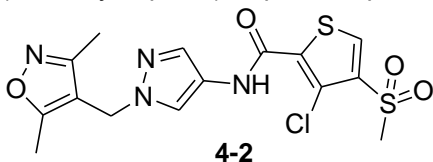
Приклад 4-1с: 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-піразол-1-іл)метил)ізоксазол

До 4-нітро-1H-піразолу (приклад 4-1d) (3.8 г, 34 ммоль) у ДМФ (80 мл), охолоджену до 0 °C за допомогою бані лід/вода, додавали t-BuOK (4.2 г, 38 ммоль). Після додавання основи баню з льодом видаляли, і суміш перемішували протягом 30 хвилин з наступним додаванням 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазолу (5 г, 34 ммоль). Реакційну суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 16 годин, потім охолоджували до температури навколишнього середовища. До реакційної суміші додавали H₂O, і осад, що утворився, збирали за допомогою фільтрування. Осад промивали додатково кількістю H₂O, потім сушили в глибокому вакуумі з одержанням 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-піразол-1-іл)метил)ізоксазолу (5.8 г, 78 %) у виді ясно-жовтої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.23 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 8.02 (s, 1H), 8.08 (s, 1H).

Приклад 4-1d: 4-нітро-1H-піразол

Піразол (10 г, 147 ммоль) додавали порціями до концентрованої сірчаної кислоти (100 мл), підтримуючи температуру реакційної суміші в посуді нижче 50 °C за допомогою бані із крижаною водою. Потім по краплях додавали концентровану азотну кислоту (10 мл), підтримуючи температуру реакційної суміші нижче 50 °C за допомогою бані із крижаною водою. Баню із крижаною водою видаляли й нагрівали реакційну суміш до 60 °C і перемішували протягом 4 годин. Реакційну суміш охолоджували за допомогою бані із крижаною водою і підлугували до ~ pH 8 за допомогою 18 N водяного розчину NaOH (150 мл). Продукт, який осаджувався у виді білої твердої речовини, збирали за допомогою фільтрування, промивали H₂O і сушили в глибокому вакуумі з одержанням 4-нітро-1H-піразолу (7 г, 42 %) у виді білої твердої речовини. ¹³C ЯМР (100 MHz, CDCl₃): δ 126.4, 137.0.

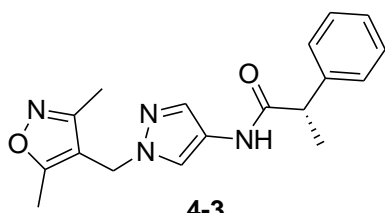
Приклад 4-2: 3-хлор-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-(метилсульфоніл)тіофен-2-карбоксамід



При перемішуванні до суміші ((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а) (500 мг, 2 ммоль) у ДХМ (20 мл), охолодженої до 0 °C за допомогою бані із крижаною водою, додавали триетиламін (600 мг, 6 ммоль). Суміш перемішували, поки вся тверда речовина не переходила в розчин (~10 хвилин). 3-Хлор-4-(метилсульфоніл)тіофен-2-карбонілу хлорид (543 мг, 2.1 ммоль) в 2 мл CH₃CN додавали за допомогою шприца до зазначеного вільного аміну при 0 °C. Видаляли баню з льодом, і суміш перемішували протягом 2 годин. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (100 мл) і органічну фазу промивали H₂O (200 мл). Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували при зниженому тиску. Тверду речовину розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/5) і одержували 3-хлор-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-(метилсульфоніл)тіофен-2-карбоксамід (375 мг, 45 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 MHz): δ 2.20 (s, 3H), 2.43 (s, 4H), 3.22 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.59 (bs, 1H). PX/MC; [M+H] 415.5. Температура плавлення: 202-204 °C.

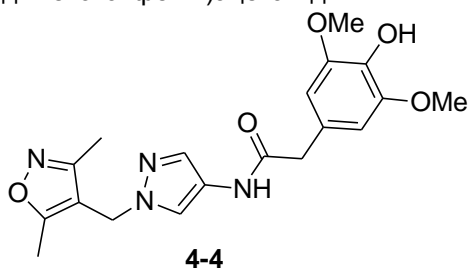
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 2.09 мкМ.

Приклад 4-3: (S)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілпропанамід.



1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (200мг, 1 ммоль), (S)-2-феніл пропіонову кислоту (156 мг, 1 ммоль) і PyBop (650 мг, 1.3 ммоль) додавали до ДМФ (4 мл) з наступним додаванням триетиламіну (0.3 мл, 2.1 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 4 годин при кімнатній температурі в атмосфері азоту, потім розбавляли етилацетатом (20 мл), промивали водним насиченим розчином NaHCO_3 (2 × 15 мл), а потім водним насиченим розчином NaCl (15 мл). Органічну фазу сушили, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Неочищений продукт повторно суспендували в метанолі (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5 % - 95 % ацетонітрил в H_2O : 25 хвилин). Фракції, що містять чистий продукт, концентрували з одержанням (S)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-фенілпропанаміду (200 мг, 60 %) у виді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 1.36 (d, J=7.2, Hz, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 3.71-3.66 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 7.33-7.17 (m, 5H), 7.37 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 10.05 (s, 1H). MS 325 (M+H). Температура плавлення 108 °C-110 °C.

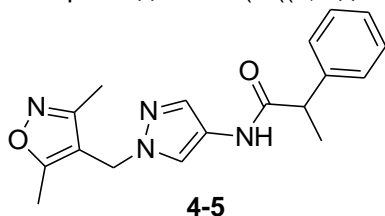
IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.41 мкМ. Приклад 4-4: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-(4-гідрокси-3,5-диметоксифеніл)ацетамід.



1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (376 мг, 1.7 ммоль), 2-(4-гідрокси-3,5-диметоксифеніл)оцтову кислоту (350 мг, 1.7 ммоль), PyBop (1 г, 2 ммоль) і триетиламін (605 мг, 6 ммоль) перемішували разом у ДМФ (10 мл) при кімнатній температурі протягом 2 годин. Реакційну суміш розбавляли водною 1N HCl (100 мл) і екстрагували ДХМ (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (30 % етилацетат у гексані) з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-(4-гідрокси-3,5-диметоксифеніл)ацетаміду (189 мг, 29 %) у виді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 2.10 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 3.40 (s, 2H), 3.70 (s, 6H), 5.07 (s, 2H), 6.53 (s, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 10.03 (s, 1H). РХ/МС; $[\text{M}+\text{H}]$ розраховано для $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5$; очікуване значення 387.16; експер. 387.6. Температура плавлення: 187-188 °C.

IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.46 мкМ.

Приклад 4-5: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-фенілпропанамід.

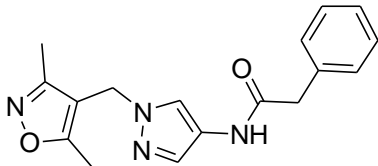


1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (300 мг, 1.3 ммоль), 2-фенілпропанову кислоту (225 мг, 1.5 ммоль), триетиламін (300 мг, 3 ммоль), ДМАП (4-диметиламінопіридин) (61 мг, 0.5 ммоль) і EDC (386 мг, 2 ммоль) перемішували разом у ДХМ (10 мл) при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш розбавляли водним розчином 1N HCl (100 мл) і екстрагували ДХМ (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (30 % етилацетат у гексані) з одержанням N-(1-

((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілпропанаміду (272 мг, 81 %) у виді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 MHz) δ 1.36 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 2.10 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.70 (m, 1H, $J=6.8$ Hz), 5.06 (s, 2H), 7.20 (t, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.31-7.28 (m, 4H), 7.38 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 10.10 (s, 1H). PX/МС; $[\text{M}+\text{H}]$ розраховано для $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$; очікуване значення 325.16; експер. 325.5. Температура плавлення: 129-130 °C.

IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.32 мкМ.

Приклад 4-6: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілацетамід.

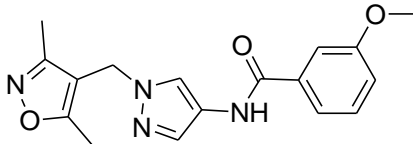


4-6

1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (230 мг, 1 ммоль) і триетиламін (300 мг, 3 ммоль) перемішували в ДХМ (10 мл), охолоджену до 0 °C за допомогою бані лід/вода. При перемішуванні до реакційної суміші по краплях додавали 2-фенілацетилу хлорид (184 мг, 1.3 ммоль). Після завершення додавання баню з льодом видаляли й реакційну суміш перемішували протягом 1 години. Суміш розбавляли ДХМ (50 мл), промивали 1N водним HCl (100 мл), а потім 1N водним NaOH (100 мл) і потім H_2O (100 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й видаляли розчинник на роторному випарнику. Залишок, що утворився, очищали методом хроматографії (50 % етилацетат у гексані) з одержанням 210 мг твердого продукту, який розтирали в порошок в етилацетаті/гексані (1/9) з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілацетаміду (188 мг, 68 %) у виді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2.15 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 3.69 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 7.15 b(s, 1H), 7.40-7.27 (m, 6H), 7.84 (s, 1H). PX/МС; $[\text{M}+\text{H}]$ розраховано для $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$; очікуване значення 311.14; експер. 311.40. Температура плавлення: 106-108 °C.

IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.53 мкМ.

Приклад 4-7: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-метоксибензамід.

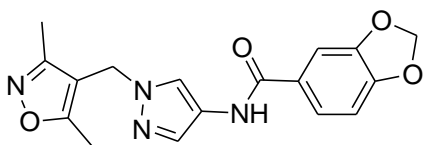


4-7

1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (300 мг, 1.3 ммоль), 3-метоксибензойну кислоту (172 мг, 1.3 ммоль), EDC (386 мг, 2 ммоль) і триетиламін (303 мг, 3 ммоль) перемішували в ДХМ (5 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 6 годин. Реакційну суміш розбавляли ДХМ (50 мл) і органічну фазу промивали водною 0.1 N HCL (150 мл), а потім водним 1N NaOH (150 мл). Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Неочищений продукт очищали методом хроматографії на силікагелі (40 % етилацетат у гексані) з одержанням 225 мг брудно-білої твердої речовини. Тверду речовину розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і білу тверду речовину збирали за допомогою фільтрування. Чистий продукт розчиняли в абсолютному етанолі й концентрували на роторному випарнику (4х, 25 мл) з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-метоксибензаміду (185 мг, 43 %) у виді білої твердої речовини. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2.20 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 5.03 (s, 2H), 7.09-7.06 (m, 1H), 7.37-7.35 (m, 2H), 7.41 (m, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.93 (bs, 1H), 8.03 (s, 1H). PX/МС; $[\text{M}+\text{H}]$ розраховано для $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$; очікуване значення 327.14; експер. 327.30. Температура плавлення: 127-129 °C.

IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.39 мкМ.

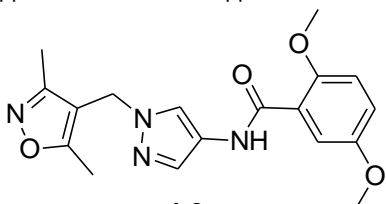
Приклад 4-8: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід

**4-8**

1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 1а) (8 мг, 35 мкмоль) і бензо[d][1,3]діоксол-5-карбовою кислоту (7 мг, 42 мкмоль) кожен розчиняли в 200 мкл диметилформаміду. Смоли на основі Si-карбодііміду (70 мг, 70 мкмоль) поміщали в 1.2 мл 96-лунковий планшет Greiner, а потім додавали амін і кислоту. Гідроксибензотриазол (6 мг, 42 мкмоль) розчиняли в 100 мкл диметилформаміду й додавали в реакційну лунку. Реакційну суміш струшували всю ніч при кімнатній температурі. Для видалення надлишку карбової кислоти й гідроксибензотриазолу в реакційну суміш додавали PS-трисамінову смолу (35 мг, 70 мкмоль) і струшували всю ніч при кімнатній температурі. У реакційну лунку додавали 200 мкл ацетонітрилу й струшували протягом 1 хвилини. Верхній прозорий розчин переносили в новий планшет. Процес екстракції повторювали більше двох раз. Розчин випаровували під вакуумом з одержанням цільового продукту. Вихід 6 %. МС М+Н розр. 341.1, експер. 341.2.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.2 мкМ.

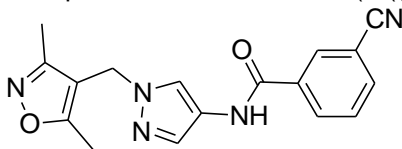
Приклад 4-9: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,5-диметоксибензамід

**4-9**

Одержували як у прикладі 4-8 з 2,5-диметоксибензойної кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 13 %. МС М+Н розр. 357.5, експер. 357.3.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.17 мкМ.

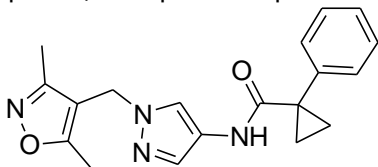
Приклад 4-10: 3-ціано-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)бензамід

**4-10**

Одержували як у прикладі 4-8 з 3-ціанобензойної кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 15 %. МС М+Н розр. 322.6, експер. 322.3.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.2 мкМ.

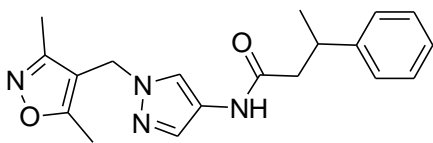
Приклад 4-11: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-фенілциклопропанкарбоксамід

**4-11**

Одержували як у прикладі 4-8 з 1-фенілциклопропанкарбової кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 6 %. МС М+Н розр. 337.6, експер. 337.5.

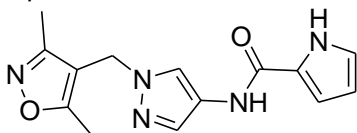
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 0.25 мкМ.

Приклад 4-12: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3-фенілбутанамід

**4-12**

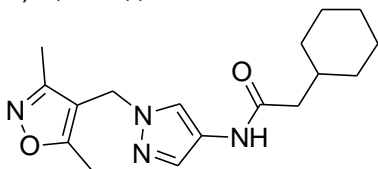
Одержували як у прикладі 4-8 з 3-фенілбутанової кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 6 %. МС М+Н розр. 339.6, експер. 339.5.

- 5 IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.28 мкМ.
 Приклад 4-13: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1H-пірол-2-карбоксамід

**4-13**

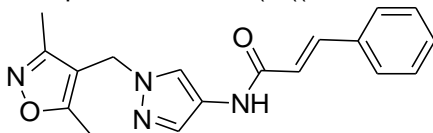
- 10 Одержували як у прикладі 4-8 з 1H-пірол-2-карбонової кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 18 %. МС М+Н розр. 286.6, експер. 286.3.

IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.57 мкМ.
 Приклад 4-14: 2-циклогексил-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ацетамід

**4-14**

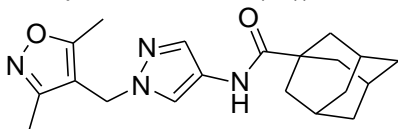
- 15 Одержували як у прикладі 4-8 з 2-циклогексаної кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 17 %. МС М+Н розр. 317.6, експер. 317.4.

- 20 IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.73 мкМ.
 Приклад 4-15: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ціннамамід

**4-15**

Одержували як у прикладі 4-8 з коричної кислоти й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а). Вихід 4 %. МС М+Н розр. 322.6, експер. 322.4.

- 25 IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.7 мкМ.
 Приклад 4-16: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)адамантан.

**4-16**

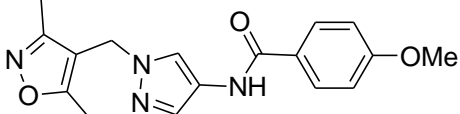
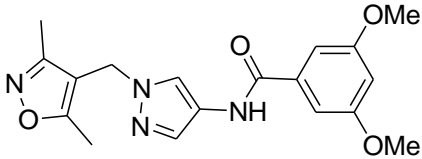
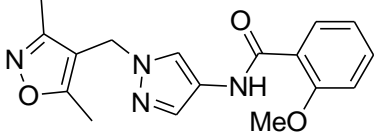
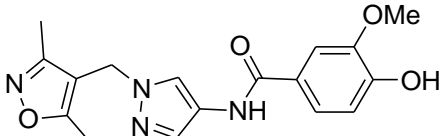
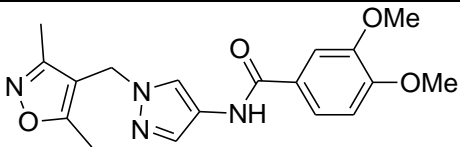
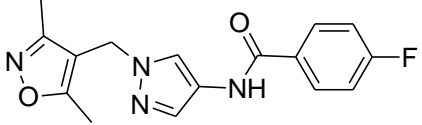
- 30 1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (300 мг, 1.56 ммоль), адамантан-1-карбонову кислоту (281 мг, 1.56 ммоль), Рувор (972 мг, 1.87 ммоль) і триетиламін (.438 мл, 3.12 ммоль) змішували в ДМФ (5 мл). Реакційну суміш в атмосфері азоту перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом (4 мл) і промивали насиченим розчином $NaHCO_3$ (2х, 3 мл) і потім насиченим розчином $NaCl$ (3 мл). Органічну фазу екстрагували, сушили й фільтрували. Розчинники видаляли під вакуумом. Неочищений продукт повторно суспендували в метанолі (4 мл) і

очищали методом ВЕРХ. Чистий продукт повторно розчиняли в етанолі й концентрували під вакуумом (3×3 мл) з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-адамантану у виді білої твердої речовини при 60 % виході. ¹H ЯМР (400 MHz, CDCl₃): δ 1.79-1.70 (m, 6H), 1.93 – 1.92 (m, 6H), 2.08 (bs, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.98 (s, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.92 (s, 1H). MS 355 (M+H). Температура плавлення 167-169 °C.

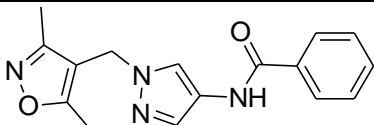
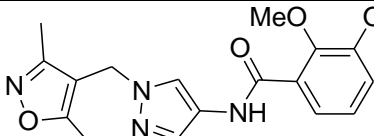
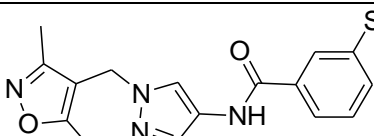
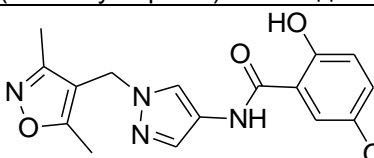
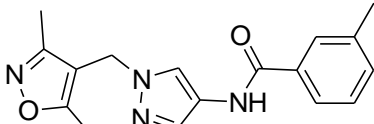
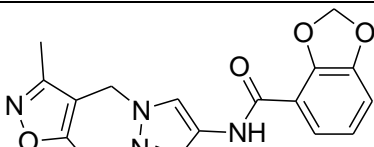
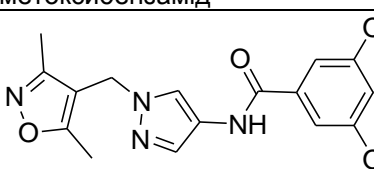
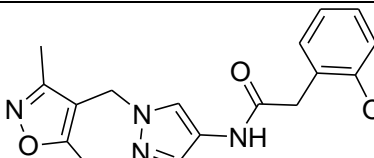
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.88 мкМ.

Додаткові сполуки були синтезовані відповідно до аналогічних методик, описаних у прикладах 4-1 – 4-16, і експериментально досліджені. Як було виявлено, зазначені додаткові сполуки мають порівняно високий рівень ефективності як інгібітори рецептора гіркої смаку hT2R8. Результати цього дослідження наведені нижче в таблиці А.

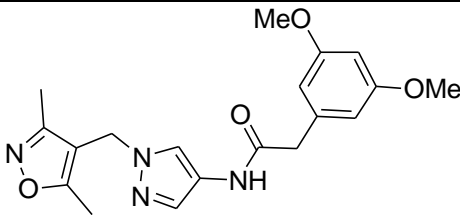
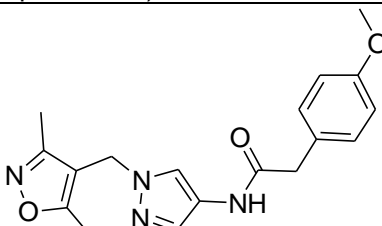
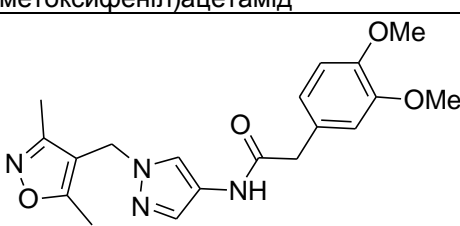
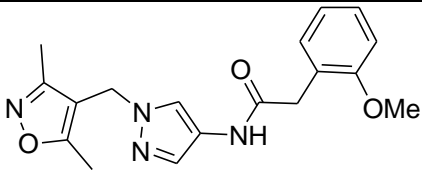
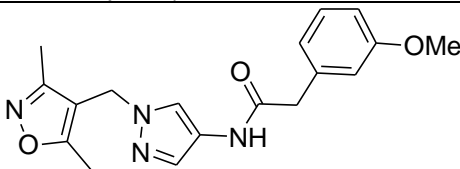
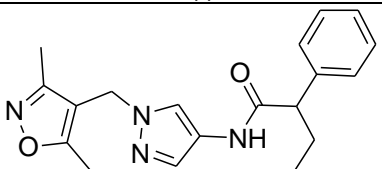
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-17	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-метоксибензамід	0.26
4-18	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,5-диметоксибензамід	0.28
4-19	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід	0.39
4-20	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-гідрокси-3-метоксибензамід	0.48
4-21	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-диметоксибензамід	0.56
4-23	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-фторбензамід	1.56

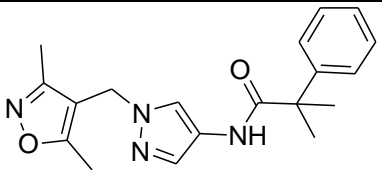
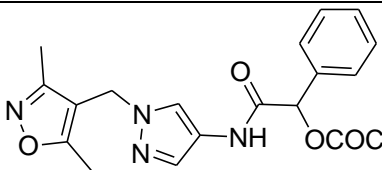
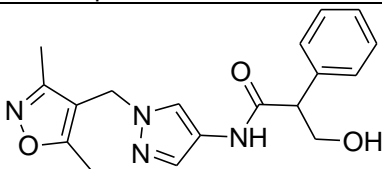
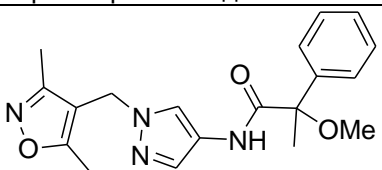
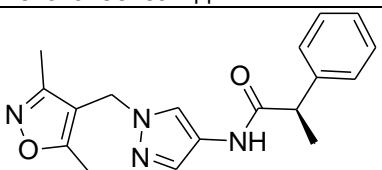
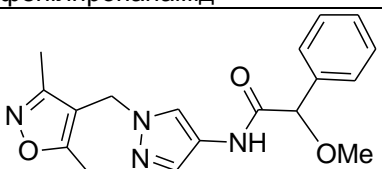
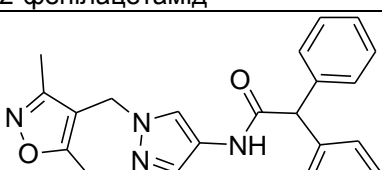
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-24	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензамід	2.62
4-25	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,3-диметоксибензамід	0.61
4-26	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-(метилсульфоніл)бензамід	0.72
4-27	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-гідрокси-5-метоксибензамід	0.98
4-28	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-метилбензамід	0.57
4-29	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід	0.30
4-30	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід	0.39
4-31	 2-(2,3-диметоксифеніл)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ацетамід	0.80

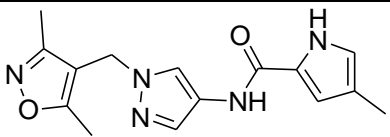
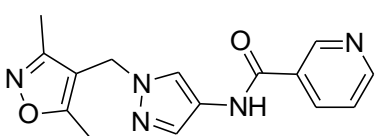
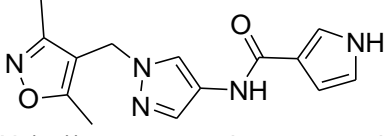
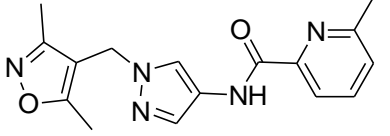
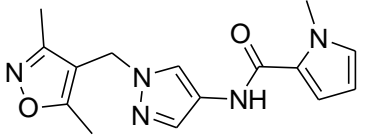
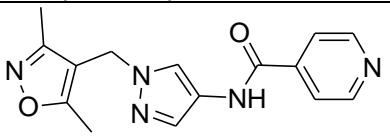
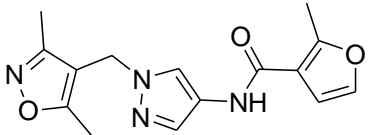
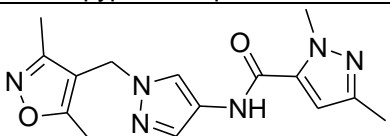
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-32	 <p>2-(3,5-диметоксифеніл)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ацетамід</p>	0.96
4-33	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(4-метоксифеніл)ацетамід</p>	0.99
4-34	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід</p>	1.11
4-35	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(2-метоксифеніл)ацетамід</p>	1.16
4-36	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід</p>	1.85
4-37	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілбутанамід</p>	0.50

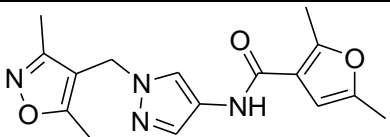
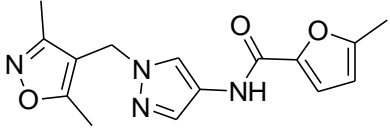
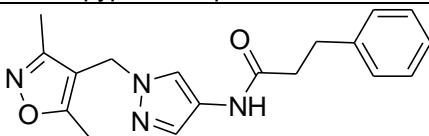
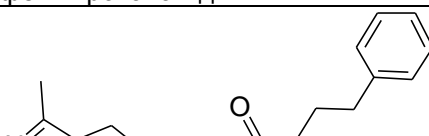
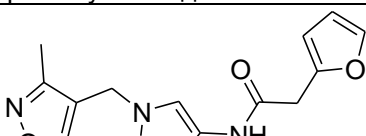
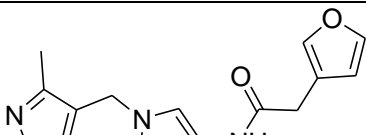
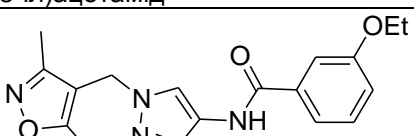
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-38	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід</p>	0.53
4-39	 <p>2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іламіно)-2-оксо-1-фенілетилацетат</p>	0.83
4-40	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-гідрокси-2-фенілпропанамід</p>	0.96
4-41	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід</p>	2.10
4-42	 <p>(R)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фенілпропанамід</p>	3.72
4-43	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метокси-2-фенілацетамід</p>	3.43
4-44	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,2-дифенілацетамід</p>	5.19

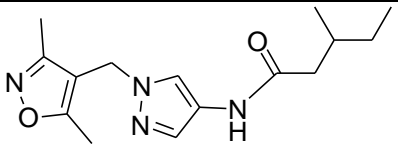
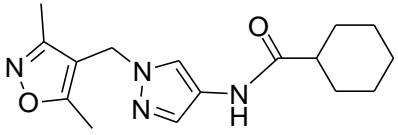
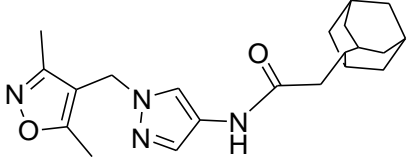
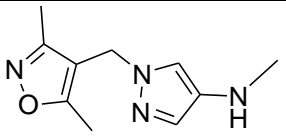
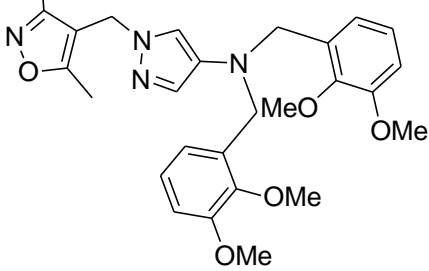
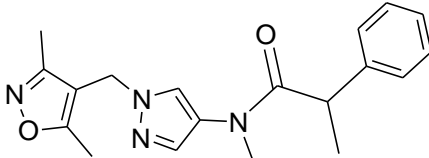
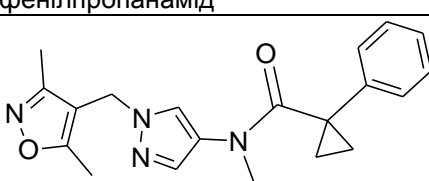
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-45	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-метил-1H-пірол-2-карбоксамід</p>	0.72
4-46	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)нікотинамід</p>	1.05
4-47	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід</p>	1.35
4-48	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-6-метилпіколінамід</p>	1.95
4-49	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-1H-пірол-2-карбоксамід</p>	3.40
4-50	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ізонікотинамід</p>	4.59
4-51	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метилфуран-3-карбоксамід</p>	7.87
4-52	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,3-диметил-1H-піразол-5-карбоксамід</p>	18.05

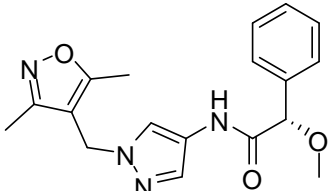
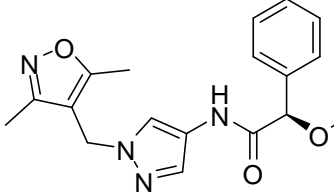
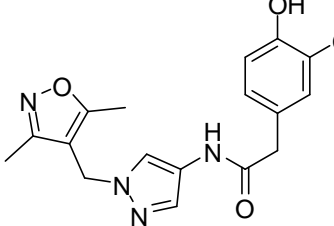
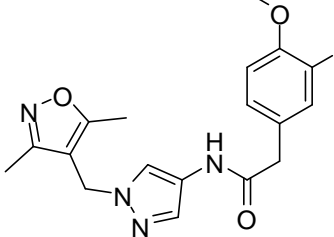
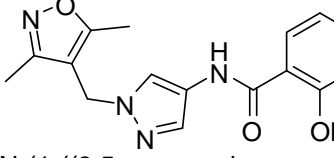
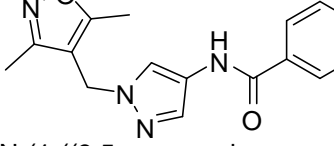
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-53	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-диметилфуран-3-карбоксамід	3.03
4-54	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-метилфуран-2-карбоксамід	3.19
4-55	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенілпропанамід	0.49
4-56	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-4-фенілбутанамід	0.83
4-57	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензамід	4.16
4-58	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(фуран-3-іл)ацетамід	8.66
4-59	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-етоксибензамід	0.22

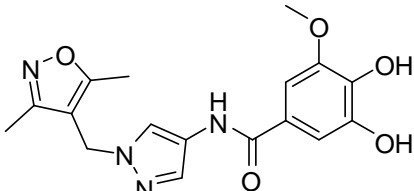
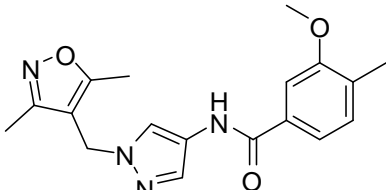
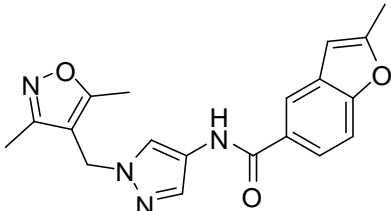
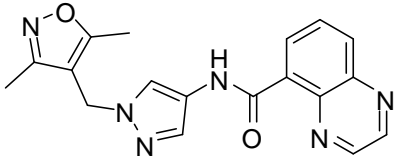
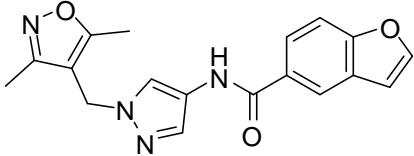
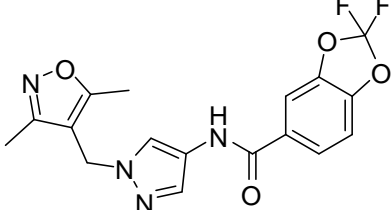
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-60	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-метилпентанамід</p>	1.94
4-61	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)циклогексанкарбоксамід</p>	2.20
4-62	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(адамант-1-іл)ацетамід</p>	3.77
4-63	 <p>1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-N-метил-1H-піразол-4-амін</p>	8.76
4-64	 <p>N, N-біс(2,3-диметоксibenзил)-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-амін</p>	12.60
4-65	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-N-метил-2-фенілпропанамід</p>	2.81
4-66	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-N-метил-1-фенілциклопропанкарбоксамід</p>	8.23

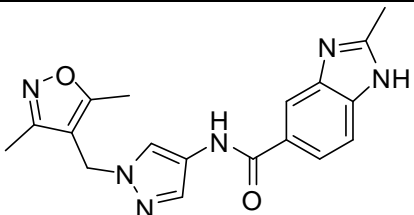
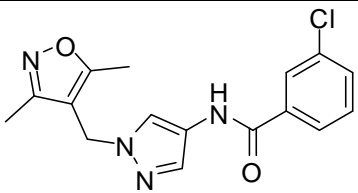
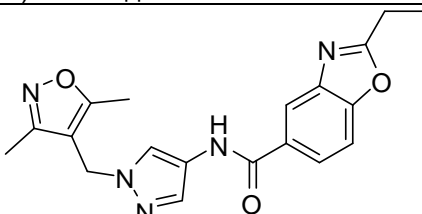
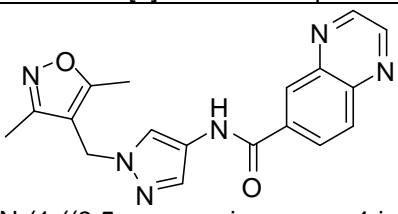
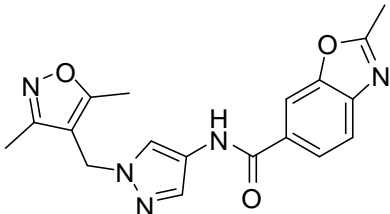
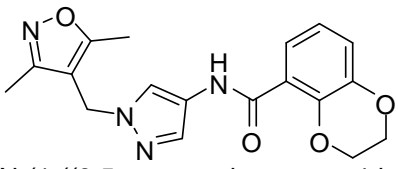
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-67	 <p>(S)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метокси-2-фенілацетамід</p>	8.6
4-68	 <p>(R)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метокси-2-фенілацетамід</p>	5.0
4-69	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(4-гідрокси-3-метоксифеніл)ацетамід</p>	4.7
4-70	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(3-гідрокси-4-метоксифеніл)ацетамід</p>	3.1
4-71	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-гідрокси-3-метоксибензамід</p>	2.9
4-72	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензо[d]ізоксазол-5-карбоксамід</p>	2.6

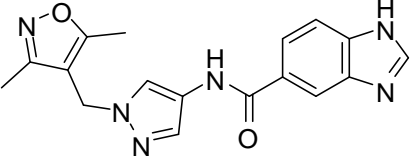
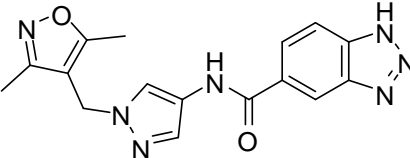
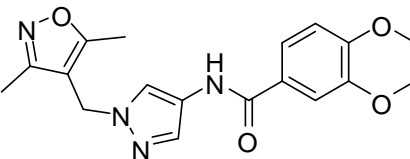
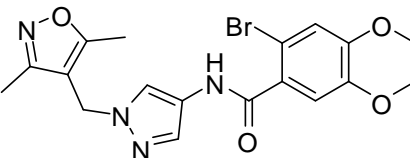
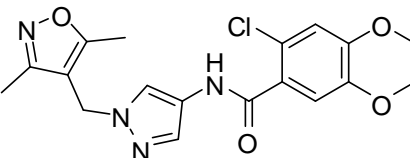
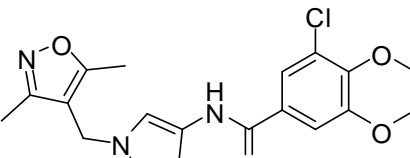
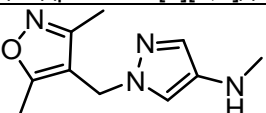
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-73	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензамід</p>	2.2
4-74	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-метокси-4-метилбензамід</p>	2.2
4-75	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метилбензофуран-5-карбоксамід</p>	2.1
4-76	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)хіноксалін-5-карбоксамід</p>	1.7
4-77	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензофуран-5-карбоксамід</p>	1.4
4-78	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід</p>	1.3

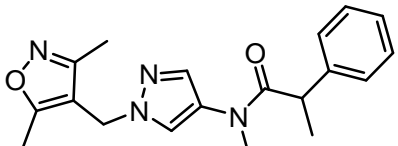
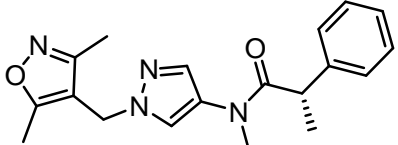
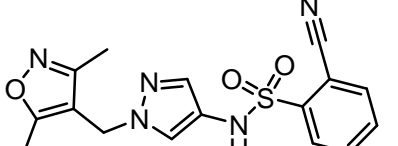
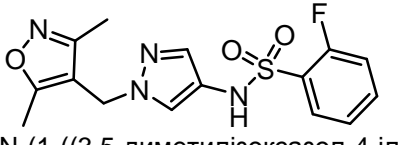
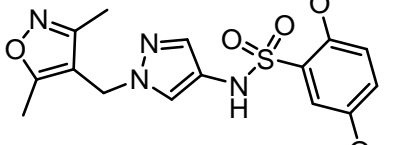
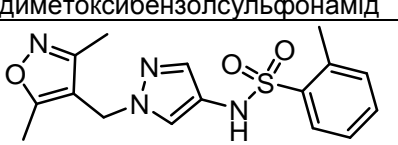
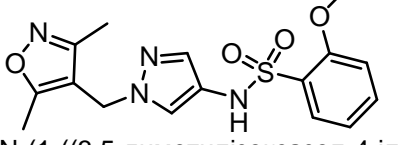
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-79	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метил-1H-бензо[d]імідазол-5-карбоксамід</p>	1.0
4-80	 <p>3-хлор-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензамід</p>	0.9
4-81	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-етилбензо[d]оксазол-5-карбоксамід</p>	0.8
4-82	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)хіноксалін-6-карбоксамід</p>	0.8
4-83	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метилбензо[d]оксазол-6-карбоксамід</p>	0.7
4-85	 <p>N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1H-бензо[d]імідазол-5-карбоксамід</p>	0.6

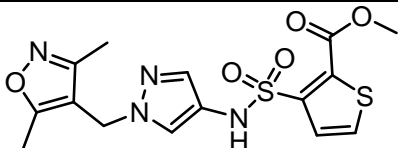
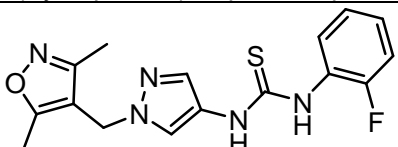
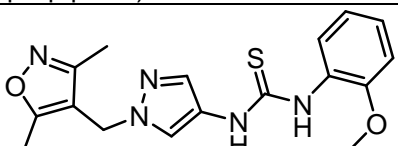
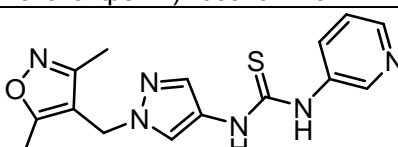
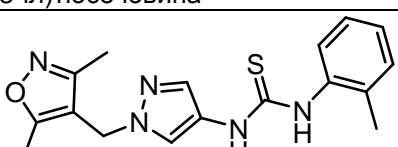
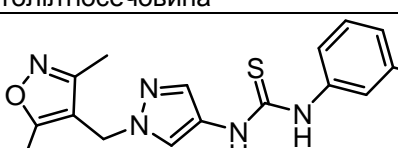
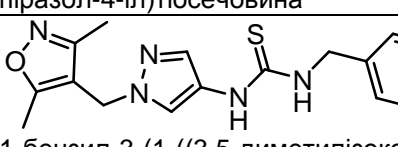
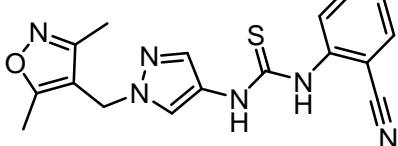
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-86	 2-(1H-бензо[d]імідазол-6-іл)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ацетамід	0.6
4-87	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1H-бензо[d][1,2,3]тріазол-5-карбоксамід	0.6
4-88	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід	0.4
4-89	 7-бром-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід	0.3
4-90	 7-хлор-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід	0.1
4-91	 8-хлор-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід	0.1
4-96	 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-N-метил-1H-піразол-4-амін	8.764

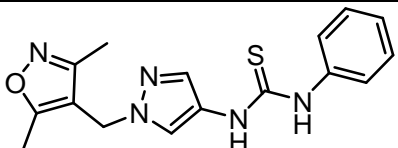
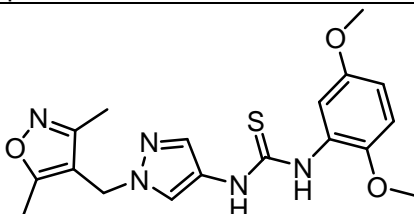
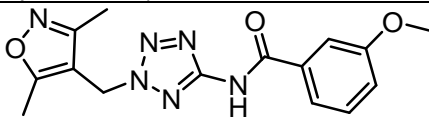
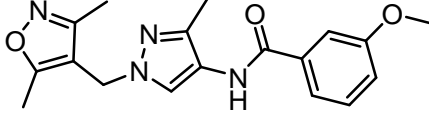
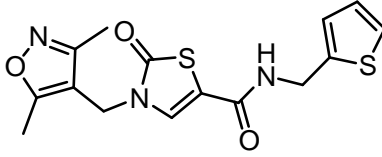
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-97	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-N-метил-2-фенілпропанамід	2.126
4-98	 (S)-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-N-метил-2-фенілпропанамід	2.811
4-99	 2-ціано-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензолсульфонамід	1.358
4-100	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-фторбензолсульфонамід	8.510
4-101	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-диметоксибензолсульфонамід	1.631
4-102	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метилбензолсульфонамід	2.153
4-103	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метоксибензолсульфонамід	3.801

Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-104	 <p>метил-3-(N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)сульфамойл)тіофен-2-карбоксилат</p>	1.252
4-105	 <p>1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-(2-фторфеніл)тіосечовина</p>	1.629
4-106	 <p>1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-(2-метоксифеніл)тіосечовина</p>	2.607
4-107	 <p>1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-(піридин-3-іл)тіосечовина</p>	2.999
4-108	 <p>1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-о-толілтіосечовина</p>	3.013
4-109	 <p>1-(3-ціанофеніл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)тіосечовина</p>	0.783
4-110	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)тіосечовина</p>	1.097
4-111	 <p>1-(2-ціанофеніл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)тіосечовина</p>	2.347

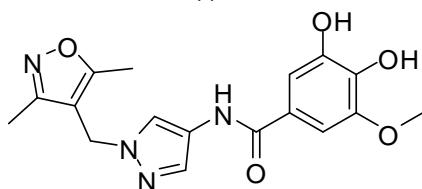
Таблиця А

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
4-112	 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3-фенілтіосечовина	2.492
4-113	 1-(2,5-диметоксифеніл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тіосечовина	5.240
4-114	 N-(2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2Н-тетразол-5-іл)-3-метоксибензамід	1.866
4-115	 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-3-метил-1Н-піразол-4-іл)-3-метоксибензамід	9.248
4-116	 3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2-оксо-N-(тіофен-2-ілметил)-2,3-дигідротіазол-5-карбоксамід	2.279

Приклади 4-67-4-91:

[0334] Одержували як у прикладі 4-73 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1а) і відповідних функціоналізованих карбонових кислот. Визначення характеристик було проведено методом РХ/МС, при цьому були знайдені необхідні маси.

Приклад 4-73: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензамід



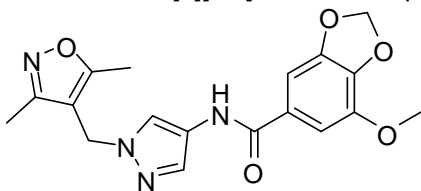
4-73

1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 4-1а) (228 мг, 1 ммоль), 3,4-дигідрокси-5-метоксибензойну кислоту (184 мг, 1 ммоль), HOBt (135мг, 1 ммоль) і EDC (191мг, 1 ммоль) розчиняли в 2 мл ДМФ у посуді для застосування в мікрохвильовій системі, після чого додавали триетиламін (101 мг, 1 ммоль). Реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор при 165 °С на 5 хвилин. Неочищений продукт очищали відразу ж, застосовуючи ВЕРХ Varian (із градієнтом 10 %-95 % ацетонітрил в Н₂О: 25 хвилин). Чисті

фракції поєднували й концентрували з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензаміду. (280 мг, 70 %). РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₇H₁₈N₄O₅; очікуване значення 359.1; експер. 359.1.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 2.2 мкМ.

5 Приклад 4-92: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-7-метоксибензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід

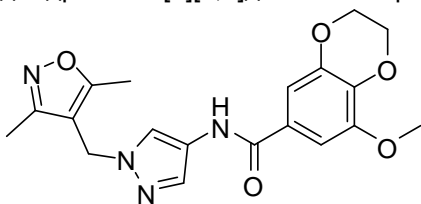


4-92

10 N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензамід (приклад 73) (50 мг, 0.14 ммоль) і карбонат цезію (113 мг, 2.5 ммоль) розчиняли в 1 мл ацетону, а потім додавали дибромметан (239 мг, 1.4 ммоль). Реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор при 120 °C на 20 хвилин. Одержаний прозорий розчин видаляли й випаровували під вакуумом. Неочищений продукт розчиняли в 1 мл етанолу й очищали методом ВЕРХ Varian (із градієнтом 10 %-95 % ацетонітрил в H₂O: 25 хвилин). Чисті фракції поєднували й концентрували з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(7-метоксибензо[d][1,3]діоксол-5-іл)ацетаміду. (12 мг, 23 %). РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₈H₁₈N₄O₅; очікуване значення 371.1; експер. 371.1.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.7 мкМ.

20 Приклад 4-93: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-8-метокси-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід

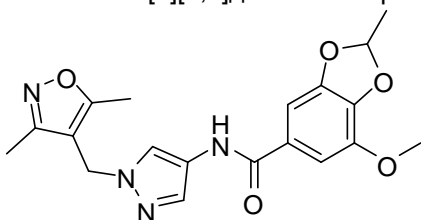


4-93

25 Одержували як у прикладі 4-92 з N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензаміду (приклад 4-73), карбонату цезію й дибромметану. Вихід 20 %. МС М+Н розр. 385.1, експер. 385.1.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.7 мкМ.

Приклад 4-94: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-7-метокси-2-метилбензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід

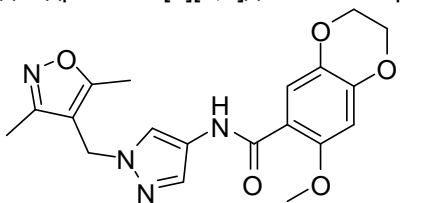


4-94

30 Одержували як у прикладі 4-92 з N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3,4-дигідрокси-5-метоксибензаміду (приклад 4-73), карбонату цезію й 1,1-дибромметану. Вихід 25 %. МС М+Н розр. 385.1, експер. 385.1.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 склала 0.7 мкМ.

35 Приклад 4-95: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-7-метокси-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксамід

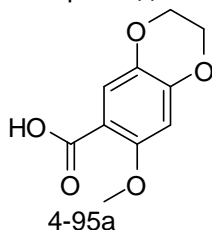


4-95

Одержували як у прикладі 4-73 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 4-1a) і 7-метокси-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбонової кислоти (приклад 4-95a). Вихід 50 %. МС M+N розр. 385.1, експер. 385.1. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО): 2.136 (s, 3H), 2.410 (s, 3H), 3.851 (s, 3H), 4.214 (bs, 2H), 4.296 (bs, 2H), 5.120 (s, 2H), 6.688 (s, 1H), 7.290 (s, 1H), 7.6006 (s, 1H), 8.069 (s, 1H), 9.856 (s, 1H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R8 склала 0.7 мкМ.

Приклад 4-95a: 7-метокси-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбонова кислота



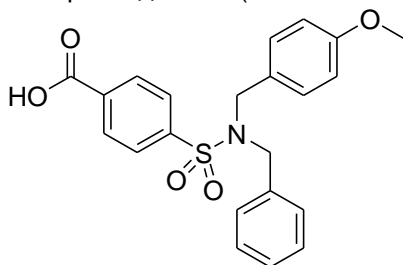
У посуді місткістю 2 мл для застосування в мікрохвильовій системі розчиняли метил-7-бром-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбоксилат (273 мг, 1 ммоль) і CuBr (14.3 мг, 0.1 ммоль) в осушеному ДМФ і поміщали на крижану баню. (540 мг, 10 ммоль) У реакційну суміш при перемішуванні по краплях додавали метоксид натрію при 0 °С. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури й перемішували протягом 45 хвилин. Потім реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор на 5 хвилин при 135 °С. Реакційну суміш розчиняли у воді й промивали етилацетатом. Водну фазу збирали й підкислювали до рН 4 за допомогою 1М НСІ. Продукт екстрагували, застосовуючи етилацетат, потім сушили над сульфатом натрію. Розчинник випаровували під вакуумом з одержанням необхідної проміжної сполуки, що являє собою 7-метокси-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-карбонову кислоту, яку застосовували безпосередньо без додаткового очищення. Вихід 57 %. МС M+N розр. 211.1, експер. 211.1.

Приклад 5

Антагоністи hT2R14: Одержання сполук відповідно до винаходу

Наступні приклади наведені для ілюстрації різних типових варіантів реалізації винаходу й ні в якому разі не обмежують даний винахід.

Приклад 5-1: 4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



5-1

Бензил-4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоат (приклад 5-1a) (517 мг, 1 ммоль) перемішували в розчині 10/1/2 6N NaOH(вод.)/ТГФ/MeOH (27 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 6 годин. Розчин підкислювали 3N HCl (вод.) до рН ~3 (приблизно 50 мл) і водну фазу екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Залишок переносили в MeOH (15 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5-95 % ацетонітрилу в H₂O, : 25 хвилин), одержуючи три аліквоти по 5 мл. Чисті фракції поєднували й концентрували до утворення білої твердої речовини. Продукт розчиняли в 15 мл абсолютного етанолу й випаровували на роторному випарнику (4х) з одержанням чистої 4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойної кислоти (174 мг, 42 %) у виді білої твердої речовини. Т. пл. 161-163 °С. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 3.78 (s, 3H), 4.32 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 6.78 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.99 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.09-7.07 (m, 2H), 7.27-7.24 (m, 3H), 7.93 (d, J=8.8 Hz, 2H), 8.24 (d, J=8 Hz, 2H). MS 412 (M⁺).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 0.22 мкМ.

Приклад 5-1a: Бензил 4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоат

4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойну кислоту (приклад 5-1b) (450, мг, 1.4 ммоль), бензилбромід (770 мг, 4.5 ммоль) і карбонат цезію (1.5 г, 4.5 ммоль) у ДМФ (10 мл) перемішували при 80 °С протягом 2 годин. Розчин охолоджували до кімнатної температури,

розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл). Об'єднані органічні фази сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували під вакуумом. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (10 % етилацетат у гексані) з одержанням бензил-4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоату (517 мг, 73 %) у виді білої твердої речовини.

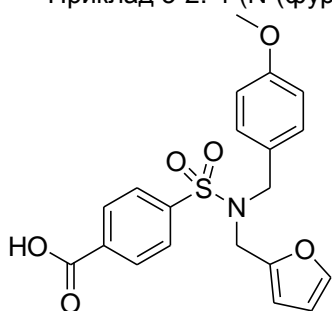
¹H ЯМР (400 MHz, CDCl₃) δ 3.76 (s, 3H), 4.28 (s, 2H), 4.32 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 6.79 (d, J=8 Hz, 2H), 6.96 (d, J=8 Hz, 2H), 7.04-7.07 (m, 2H), 7.21-7.23 (m, 3H), 7.35-7.47 (m, 5H), 7.85 (d, J=8 Hz, 2H), 8.17 (d, J=8.4 Hz, 2H).

Приклад 5-1b: 4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота

4-(Хлорсульфоніл)бензойну кислоту (5 г, 22.7 ммоль) у виді твердої речовини додавали в три порції при перемішуванні до розчину 4-метокси-бензиламіну (6.1 г, 45 ммоль) і триетиламіну (2.3 г, 22.7 ммоль) в ацетоні (100 мл), охолоджену до 0 °C за допомогою бані із крижаною водою, протягом 10 хвилин. Баню з льодом видаляли й реакційну суміш перемішували протягом додаткових 4 годин. Реакційну суміш розбавляли розчином 5 % оцтової кислоти в H₂O (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Білу тверду речовину, що утворилася, розтирали в порошок з гексаном/етилацетатом (9/1) з одержанням 4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойної кислоти (5.1 г, 70 %) у виді білої твердої речовини.

¹H ЯМР (400 MHz, DMSO d₆) δ 3.68 (s, 3H), 3.91 (s, 2H), 6.79 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.10 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.80 (d, J=8.8 Hz, 2H), 8.02 (d, J=8.4 Hz, 2H).

Приклад 5-2: 4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



5-2

4-метоксибензил-4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоат (приклад 5-2a) (750 мг, 1.4 ммоль) перемішували в суміші 2/2/1 водного 2N LiOH/ТГФ/MeOH (45 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 3 годин. Розчин підкислювали водною 1N HCl до pH ~3 (приблизно 100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Залишок переносили в MeOH (9 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5-95 % ацетонітрилу в H₂O: 40 хвилин), одержуючи три аліквоти по 3 мл. Чисті фракції поєднували й концентрували до утворення білої твердої речовини. Продукт розчиняли в абсолютному етанолі й випаровували (4х, 20 мл) з одержанням чистої 4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойної кислоти (205 мг, 36 %) у виді білої твердої речовини. Т. пл. 151-152 °C. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 3.71 (s, 3H), 4.24 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 6.14 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.26 (m, 1H), 6.87 (d, 2H, J=9.2 Hz), 7.14 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.41 (s, 1H), 7.89 (d, 2H, J=8 Hz), 8.06 (d, 2H, J=8.4 Hz), 13.48 (bs, 1H). MS 400 (M-H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 0.59 мкМ.

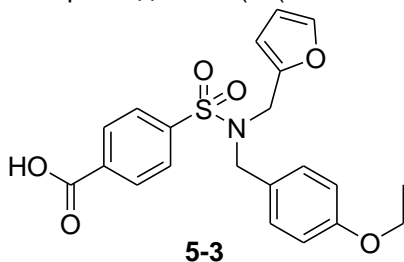
Приклад 5-2a: 4-метоксибензил 4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоат:

4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойну кислоту (приклад 5-2b) (500 мг, 1.8 ммоль), п-метокси-бензилхлорид (624 мг, 4.0 ммоль) і карбонат цезію (1.3 г, 4.0 ммоль) розчиняли в ДМФ (10 мл) і перемішували при 80 °C протягом 1 години. Суміш охолоджували до температури навколишнього середовища, розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували етилацетатом (3 × 100 мл). Об'єднані органічні речовини сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Продукт очищали методом хроматографії на силікагелі (15 % етилацетат у гексані) з одержанням 4-метоксибензил-4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоату (753 мг, 80 %) у виді прозорої олії. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 3.70 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 4.22 (s, 2H), 4.26 (s, 2H), 5.39 (s, 2H), 6.14 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.25 (m, 1H), 6.87 (d, 2H, J=8.8 Hz), 6.97 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.13 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.39 (m, 1H), 7.43 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.91 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.07 (d, 2H, J=8.4 Hz).

Приклад 5-2b: 4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойна кислота:

4-(Хлорсульфоніл)бензойну кислоту (5.0 г, 22.7 ммоль) при перемішуванні додавали в три порції протягом 10 хвилин до розчину фурфуриламіну (6.6 г, 68 ммоль) в ацетоні (200 мл), охолоджену до 0 °С за допомогою бані із крижаною водою. Після завершення додавання сульфонілхлориду баню з льодом видаляли й розчин перемішували протягом 1 години при температурі навколишнього середовища. Суміш концентрували й обробляли методом хроматографії на силікагелі (90 % етилацетат, 8 % гексан й 2 % оцтова кислота) з одержанням 4.4 г 4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойної кислоти (4.4 г, 68 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 4.04 (d, 2H, J=6 Hz), 6.13 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.25 (m, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.83 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.05 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.36 (t, 1H, J=6 Hz), 13.4 (bs, 1H).

Приклад 5-3: 4-(N-(4-етоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойна кислота



4-Ціано-N-(4-етоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід (приклад 5-3а) (300 мг, 0.8 ммоль) перемішували в 1/1 суміші діоксану/1.5 N водного NaOH (100 мл) при 80 °С протягом 16 годин. Суміш охолоджували, підкисляли 1N водною HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Тверду речовину розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (~1/9) і збирали за допомогою фільтрування з одержанням 4-(N-(4-етоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойної кислоти (250 мг, 69 %) у виді білої твердої речовини. ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 1.29 (t, J=6.8 Hz, 3H), 3.97 (q, J=6.4 Hz, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 6.15 (d, J=3.2 Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 6.84 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.87 (d, J=8.4 Hz, 2H), 8.00 (d, J=8.4 Hz, 2H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 3.0 мкМ.

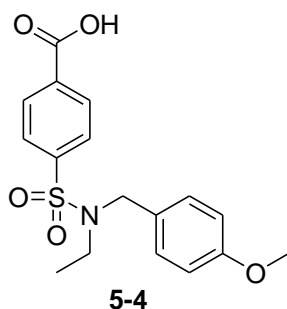
Приклад 5-3а: 4-ціано-N-(4-етоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід:

4-Ціанобензол-1-сульфонілхлорид (600 мг, 2.9 ммоль) додавали при перемішуванні до розчину N-(4-етоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанаміну (приклад 5-3b) (685 мг, 2.9 ммоль) і триетиламіну (455 мг, 4.5 ммоль) у ДХМ (100 мл) і реакційну суміш перемішували протягом 2 годин. Реакційну суміш розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували ДХМ (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (10 % етилацетат у гексані) з одержанням 4-ціано-N-(4-етоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід (665 мг, 68 %) у виді брудно-білої твердої речовини. ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 1.29 (t, J=7.2 Hz, 3H), 3.97 (q, J=6.8 Hz, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 6.15 (d, J=3.2 Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 6.84 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.92 (d, J=8.4 Hz, 2H), 8.03 (d, J=8.4 Hz, 2H).

Приклад 5-3b: 4 N-(4-етоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанамін:

4-Етоксibenзальдегід (5 г, 33 ммоль) і фурфуриламін (4.2 г, 43 ммоль) у суміші метанолу (50 мл), триметилортоформіату (10 мл) і AcOH (1 мл) перемішували при кімнатній температурі в атмосфері азоту протягом 16 годин. Додавали боргідрид натрію (1.4 г, 35 ммоль) в 4 порції протягом 30 хвилин (екзотермічна реакція). Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 2 годин при кімнатній температурі. Розчинник видаляли під вакуумом, і залишок переносили в етилацетат (150 мл). Органічну фазу промивали H₂O (200 мл) і водну фазу знову екстрагували етилацетатом (2х, 100 мл). Об'єднані органічні фази концентрували й залишок очищали на силікагелі (70 % етилацетат у гексані з ~0.5 % триетиламіном) з одержанням N-(4-етоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанаміну (6.1 г, 80 %) у виді прозорої олії. ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.40 (t, J=7.2 Hz, 3H), 3.71 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 4.02 (q, J=7.2 Hz, 2H), 6.17 (d, J=4 Hz, 1H), 6.31 (m, 1H), 6.84 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.23 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.36 (m, 1H).

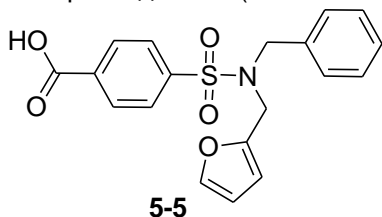
Приклад 5-4: 4-(N-етил-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойну кислоту (приклад 5-1b) (160 мг, 0.5 ммоль) і карбонат цезію (325 мг, 1 ммоль) поміщали в посуд для застосування в мікрохвильовій системі й розчиняли в 2 мл ДМФ. У реакційну суміш додавали етильодид (155 мг, 1 ммоль). Реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор і нагрівали при 165 °С протягом 5 хвилин. Реакційну суміш розчиняли в етилацетаті й промивали водою. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію й випаровували у вакуумі. Неочищений продукт розчиняли в розчині 4/1 6N NaOH(вод.)/тетрагідрофуран (3 мл) і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 6 годин. Розчин підкислювали 3N HCl (вод.) до pH ~3 і продукт екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували під вакуумом. Залишок переносили в метанол (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5-95 % ацетонітрилу в H₂O: 25 хвилин). Як відомо, ці сполуки інгібують hT2R14 з IC₅₀ 20 мкМ. Вихід 35 %. МС М+Н розр. 350.11, експер. 350.0.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 10 мкМ.

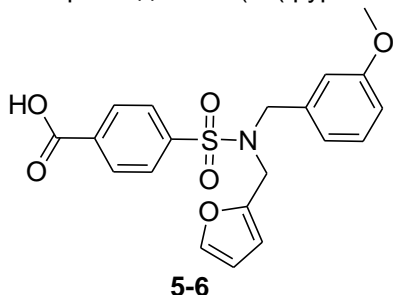
Приклад 5-5: 4-(N-бензил-N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойна кислота



4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойну кислоту (приклад 5-2b) (140 мг, 0.5 ммоль) і карбонат цезію (325 мг, 1 ммоль) поміщали в посуд для застосування в мікрохвильовій системі й розчиняли в 2 мл ДМФ. У реакційну суміш додавали (бромметил)бензол (170 мг, 1 ммоль). Реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор і нагрівали при 165 °С протягом 5 хвилин. Реакційну суміш розчиняли в етилацетаті й промивали водою. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію й випаровували у вакуумі. Неочищений продукт розчиняли в 4/1 розчині 6N NaOH(вод.)/тетрагідрофуран (3 мл) і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 6 годин. Розчин підкислювали 3N HCl (вод.) до pH ~3 й екстрагували продукт етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували у вакуумі. Залишок переносили в метанол (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (із градієнтом 5-95 % ацетонітрилу в H₂O: 25 хвилин). Вихід 35 %. МС М+Н розр. 372.4, експер. 372.0.

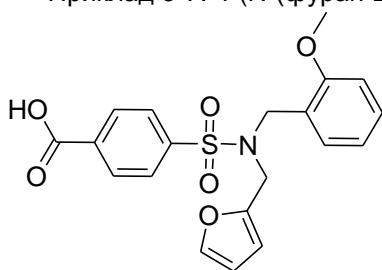
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 4.6 мкМ.

Приклад 5-6: 4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(3-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-5 з 1-(бромметил)-3-метоксибензолу й 4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойної кислоти (приклад 5-2b). Вихід 35 %. МС М+Н розр. 402.3, експер. 402.0.

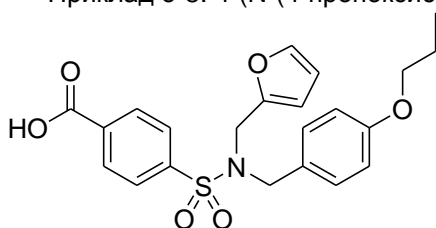
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 10 мкМ.
Приклад 5-7: 4-(N-(фуран-2-ілметил)-N-(2-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



5-7

Одержували як у прикладі 5-5 з 1-(бромметил)-2-метоксибензолу й 4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойної кислоти (приклад 5-2b). Вихід 35 %. МС М+Н розр. 402.3, експер. 402.0.

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 12 мкМ.
Приклад 5-8: 4-(N-(4-пропоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойна кислота



5-8

4-Ціано-N-(4-пропоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід (приклад 5-8a) (300 мг, 0.8 ммоль) перемішували в 1/1 суміші діоксану/1.5 N водного NaOH (100 мл) при 80 °C протягом 16 годин. Суміш охолоджували, підкисляли 1N водною HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Тверду речовину розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (~1/9) і збирали за допомогою фільтрування з одержанням 4-(N-(4-пропоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)сульфамойл)бензойної кислоти (165 мг, 63 %) у виді білої твердої речовини. ЯМР (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.70 (m, J=6.8 Hz, 2H), 3.87 (t, J=6.4 Hz, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.27 (s, 2H), 6.13 (d, J=2.8 Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 6.84 (d, J=6.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.87 (d, J=6.8 Hz, 2H), 8.05 (d, J=6.8 Hz, 2H), 13.45 (bs, 1H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 2.5 мкМ.

Приклад 5-8a: 4-ціано-N-(4-пропоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід:

4-Ціанобензол-1-сульфоніл хлорид (600 мг, 2.9 ммоль) додавали при перемішуванні до розчину N-(4-пропоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанаміну (приклад 5-8b) (685 мг, 2.9 ммоль) і триетиламіну (455 мг, 4.5 ммоль) у ДХМ (100 мл) і реакційну суміш перемішували протягом 2 годин. Реакційну суміш розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували ДХМ (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (10 % етилацетат у гексані) з одержанням 4-ціано-N-(4-пропоксибензил)-N-(фуран-2-ілметил)бензолсульфонамід (500 мг, 50 %) у виді брудно-білої твердої речовини. ЯМР (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 0.95 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.70 (m, J=6.4 Hz, 2H), 3.88 (t, J=6.4 Hz, 2H), 4.25 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 6.15 (d, J=3.2 Hz, 1H), 6.27 (m, 1H), 6.84 (d, J=6.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.93 (d, J=6.4 Hz, 2H), 8.01 (d, J=6.4 Hz, 2H).

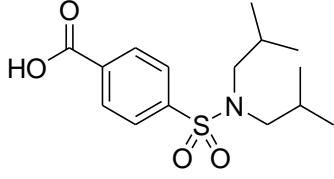
Приклад 5-8b: 4 N-(4-пропоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанамін:

4-Пропоксибензальдегід (5 г, 31 ммоль) і фурфуріламін (3.9 г, 40 ммоль) у суміші метанолу (50 мл), триметилортоформіату (10 мл) і АсОН (~1 мл) перемішували при кімнатній температурі в атмосфері азоту протягом 16 годин. Додавали в 4 порції боргідрид натрію (1.4 г, 35 ммоль) протягом 30 хвилин (екзотермічна реакція). Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 2 годин при кімнатній температурі. Розчинник видаляли на роторному випарнику, і залишок переносили в етилацетат (150 мл). Органічну фазу промивали H₂O (200 мл) і водну фазу знову екстрагували етилацетатом (2х, 100 мл). Об'єднані органічні фази концентрували й залишок очищали на силікагелі (70 % етилацетат у гексані з ~2 % триетиламіну) з одержанням

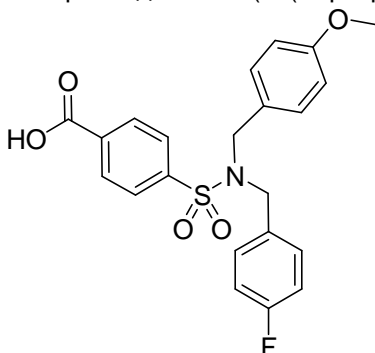
N-(4-пропоксибензил)-1-(фуран-2-іл)метанаміну (5.3 г, 75 %) у виді жовтої олії. ЯМР (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1.03 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.79 (m, J=6.4 Hz, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.90 (t, J=6.8 Hz, 2H), 6.17 (d, J=3.2 Hz, 1H), 6.32 (m, 1H), 6.85 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.22 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.37 (m, 1H).

Додаткові сполуки експериментально досліджували й виявили, що вони мають відносно високий рівень ефективності як інгібітори рецептора гіркої смаку hT2R14. Результати цього дослідження наведені нижче в таблиці В.

Таблиця В

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-9	 4-(N, N-диізобутилсульфамойл)бензойна кислота	15

Приклад 5-10: 4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



[00370] Метил-4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоат (приклад 5-10a) (3.7 г, 8.3 ммоль) розчиняли в MeOH/ТГФ (1:1.5, 30 мл) і обробляли водним NaOH (3 N, 15 мл). Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища всю ніч, потім MeOH і ТГФ видаляли у вакуумі. Водний розчин, що утворився, підкислювали 6 N водн. HCl до pH ~3 й екстрагували EtOAc (3 × 40 мл). Об'єднані органічні фази промивали водою й соляним розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою перекристалізації з EtOH з одержанням чистої 4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойної кислоти у виді білої кристалічної твердої речовини (2.1 г, 58.6 %). МС (М-Н, 428.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ , ppm: 3.66 (s, 3H), 4.23 (s, 2H), 4.26 (s, 2H), 6.72 (d, 2H, J=8 Hz), 6.95 (m, 6H), 7.92 (d, 2H J=8 Hz), 8.07 (d, 2H, J=8 Hz). IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 1.97 мкМ.

Приклад 5-10a: Метил-4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)-бензоат

Метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоат (приклад 5-10b) (4.3 г, 12.8 ммоль) розчиняли в ацетоні (70 мл). Додавали карбонат цезію (8.57 г, 25.6 ммоль) і 4-фторбензилбромід (1.76 мл, 14.08 ммоль) і перемішували суміш при кімнатній температурі всю ніч. Неорганічні солі відфільтровували й ацетон видаляли у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в етилацетаті, промивали водою й соляним розчином, потім органічну фазу сушили над сульфатом магнію й концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою перекристалізації з етилацетату/гексану з одержанням чистого метил-4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоату (3.7 г, 65 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400MHz, CDCl_3): δ , ppm: 3.77 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 4.27 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 6.74 (d, 2H, J=8 Hz), 6.92 (m, 4H), 7.03 (m, 2H), 7.88 (d, 2H J=8 Hz), 8.16 (d, 2H, J=8 Hz).

Приклад 5-10b: Метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоат

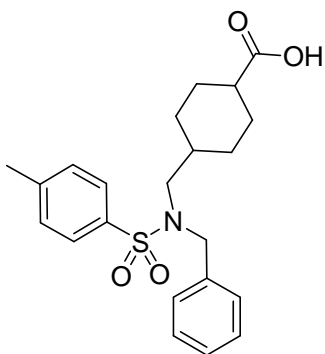
До розчину метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10c) (4 г, 17.09 ммоль) у дихлорметані (40 мл) при 0 °C на крижаній бані додавали (4-метоксифеніл)метанамін (2.56 мл, 19.65 ммоль) і триетиламін (2.38 мл, 17.1 ммоль). Потім баню з льодом видаляли й залишали суміш нагріватися до температури навколишнього середовища при перемішуванні протягом додаткових 2 годин. Після завершення реакції (контролювали методом ТСХ, 40 % етилацетат/гексан), розчинник видаляли у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в етилацетаті (200 мл), промивали 1N HCl (водн., 20 мл), водою (20 мл) і соляним розчином (20 мл), потім

сушили над сульфатом магнію. Розчин концентрували й продукт очищали методом перекристалізації з гарячого етилацетату/гексану з одержанням чистого метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоату (4.3 г, 74.8 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400MHz, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.67 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.93 (s, 2H), 6.78 (m, 2H), 7.09 (m, 2H), 7.87(m, 2H), 8.08 (m, 2H), 8.25(br, s, 1H).

Приклад 5-10с: Метил-4-(хлорсульфоніл)бензоат

4-Хлорсульфонілбензойну кислоту (5 г, 23 ммоль) і тіонілхлорид (20 мл) у дихлоретані (10 мл) нагрівали до 80 °С протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували шляхом роторного випарювання з одержанням коричневої твердої речовини. Тверду речовину охолоджували на льоду протягом 5 хвилин і при перемішуванні додавали крижаний метанол (40 мл) при 0 °С протягом 5 хвилин. Реакційну суміш залишали нагріватися до температури навколишнього середовища й перемішували додаткові 10 хв. Після додавання крижаної води (40 мл) одержували білу тверду речовину, яку збирали за допомогою фільтрування й сушили під вакуумом з одержанням чистого метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (4.5 г, 84 %). ¹H ЯМР (400MHz, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.84 (s, 3H), 7.70 (d, 2H, J=8.4Hz), 7.93 (d, 2H, J=8.4Hz).

Приклад 5-11: 4-((N-бензил-4-метилфенілсульфонамідо)метил)циклогексан-карбонова кислота

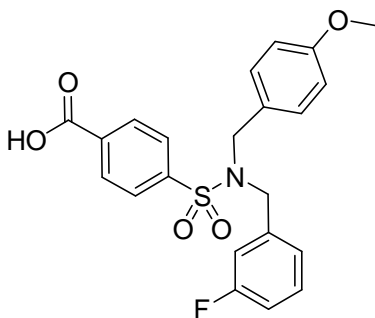


До суспензії 4-(амінометил)циклогексанкарбонової кислоти (1.57 г, 10 ммоль) в 100 мл 2,2-диметоксипропану додавали HCl (10 мл, 36 % водн.). Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 18 годин й потім концентрували. Залишок розчиняли в мінімальному об'ємі MeOH і додавали діетиловий ефір для осадження солі HCl, метил-4-(амінометил)циклогексанкарбоксилату у виді брудно-білої твердої речовини. Цю речовину застосовували без подальшого очищення або визначення характеристик.

До суміші HCl солі метил-4-(амінометил)циклогексанкарбоксилату (208 мг, 1 ммоль) в 5 мл дихлорметану при 0 °С на крижаний бані додавали триетиламін (360 мкл, 2.58 ммоль) і 4-метилбензол-1-сульфонілхлорид (190 мг, 1 ммоль). Суміш на бані з льодом залишали повільно нагріватися до температури навколишнього середовища й перемішували всю ніч. Розчинник видаляли у вакуумі. Залишок повторно розчиняли в етилацетаті (20 мл), промивали 1N HCl (5 мл), водою (5 мл) і соляним розчином (5 мл), потім сушили над сульфатом магнію й концентрували. Одержаний неочищений продукт (162 мг, 0.5ммоль) повторно розчиняли в ацетоні (5мл) і обробляли карбонатом калію (110 мг, 0.79 ммоль) і (4-фторфеніл)метанаміном (1.76 мл, 14.08 ммоль). Суміш перемішували в посуді під тиском при 80 °С всю ніч, потім охолоджували й відфільтровували неорганічні солі. Ацетон видаляли під вакуумом, і залишок повторно розчиняли в етилацетаті й промивали водою, а потім соляним розчином. Органічну фазу сушили над сульфатом магнію й концентрували. Неочищений продукт (162 мг, 0.4 ммоль) розчиняли в MeOH/ТГФ (1:1.5, 10 мл) і обробляли водним NaOH (10N, 400 мкл). Суміш перемішували при 100 °С протягом 20 хв. у мікрохвильовій печі й потім видаляли MeOH і ТГФ у вакуумі. Залишок підкисляли 6 N водн. HCl до pH ~3 й екстрагували EtOAc; об'єднані органічні фази промивали водою й соляним розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою перекристалізації з EtOH з одержанням чистої 4-((N-бензил-4-метилфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонової кислоти у виді білої твердої речовини (120мг, 74 %). МС (M+H, 402); ¹H ЯМР (400MHz, ДМСО-d₆): δ, ppm: 0.68 (m, 2H)), 0.91 (m, 2H), 1.06 (br, s, 1H), 1.50 (d, 2H), 1.72(d, 2H), 2.0(1H), 2.41 (s, 3H), 2.86 (m, 2H), 4.21(s, 2H), 7.30(m, 5H), 7.43(m, 2H), 7.73(m, 2H), 11.97(br, s, 1H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 0.014 мкм.

Приклад 5-12: 4-(N-(3-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота

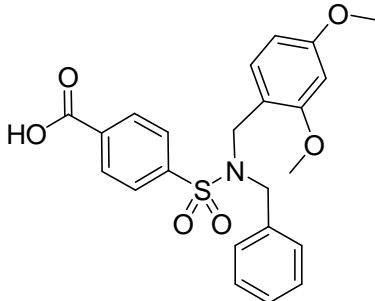


Метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоат (приклад 5-10b) (500 мг, 1.49 ммоль), 3-фторбензилбромід (280 мг, 2.98 ммоль) і карбонат цезію (971 мг, 2.98 ммоль) поміщали в ДМФ (12 мл) і перемішували при 90 °С протягом 4 годин. Розчин охолоджували до температури навколишнього середовища, розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл). Об'єднані органічні фази сушили над MgSO₄, фільтрували й концентрували у вакуумі. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (10-20 % етилацетат у гексані) з одержанням метил-4-(N-(3-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (528 мг, 80 %) у виді білої твердої речовини.

Метил-4-(N-(3-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоат (500 мг, 1.12 ммоль) розчиняли в MeOH/ТГФ (1:1, 40 мл) і обробляли розчином водного NaOH (10 N, 8 мл). Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища всю ніч, потім видаляли MeOH і ТГФ шляхом роторного випарювання. Водний розчин, що утворився, промивали EtOAc (10 мл) і підкислювали 6 N водн. HCl (~15 мл) до pH~4. Водний розчин екстрагували EtOAc (3х, 40 мл) і об'єднані органічні фази промивали водою, соляним розчином, сушили над MgSO₄ і концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою перекристалізації з EtOH з одержанням титульної сполуки 4-(N-(3-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойної кислоти у виді білої кристалічної твердої речовини (150 мг) з 30 % виходом.

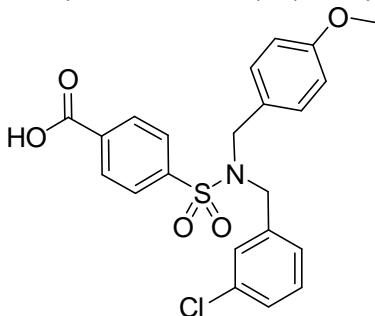
МС (М-Н, 428.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 3.65 (s, 3H), 4.27 (s, 2H), 4.29 (s, 2H), 6.75-7.00 (m, 7H), 7.20 (m, 1H), 7.95 (d, 2H, J=8 Hz); 8.10 (d, 2H, J=8 Hz).

Приклад 5-13: 4-(N-бензил-N-(2,4-диметоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з (2,4-диметоксифеніл)метанаміну, метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10c) і бензилброміду. МС (М-Н, 440.10); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 3.50(s, 63H), 3.66(s, 3H), 4.20(s, 2H), 4.34(s, 2H), 6.29(s, 1H), 6.33(d, J=8.0Hz, 1H), 6.91(d, J=8.8Hz, 1H), 7.12-7.23 (m, 5H), 7.80(d, J=8.0 Hz, 2H), 8.01 (d, J=8.4Hz, 2H), 13.49(s, 1H).

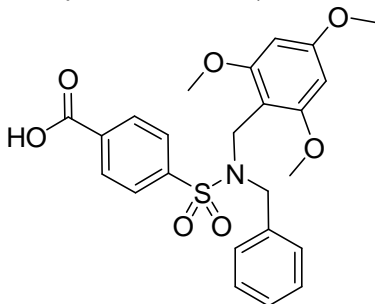
Приклад 5-14: 4-(N-(3-хлорбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і 1-(бромметил)-3-хлорбензолу. МС (М-Н, 444.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 3.69 (s, 3H), 4.30 (m, 4H), 6.76-7.24 (m, 8H), 7.99 (m, 2H), 8.13 (m, 2H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 1.88 мкМ.

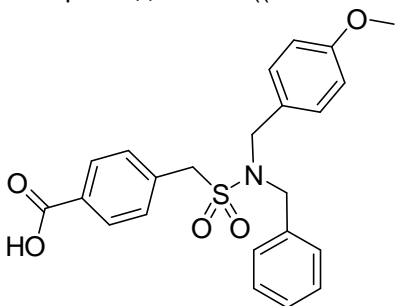
Приклад 5-15: 4-(N-бензил-N-(2,4,6-триметоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



5 Одержували як у прикладі 5-10 з (2,4,6-триметоксифеніл)метанаміну, метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10с) і бензилброміду. МС (М-Н, 470.10); ¹Н ЯМР (400MHz, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.45(s, 6H), 3.69(s, 3H), 4.26(s, 2H), 4.28(s, 2H), 5.98(s, 2H), 7.11-7.26(m, 5H), 7.82(d, J=8.0Hz, 2H), 8.07(d, J=8 Hz, 2H), 13.49(s, 1H). Елементний аналіз (експер., %): С 61.05; Н 5.49; N 2.98; (розрах., %): С 61.13; Н 5.34 й N 2.97

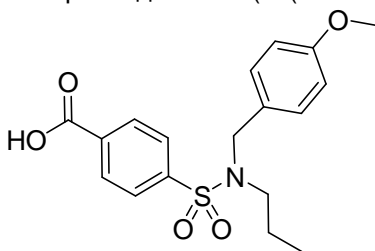
10 IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 10.76 мкМ.

Приклад 5-16: 4-((N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)метил)бензойна кислота



15 Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і бензилброміду. МС (М-Н, 424.1); ¹Н ЯМР (400MHz, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.72 (s, 3H), 4.18 (d, 2H), 4.55 (s, 2H), 6.83 (m, 2H), 7.12 (m, 2H), 7.21 (m, 2H), 7.28 (m, 3H), 7.43 (m, 2H), 7.93 (m, 2H).

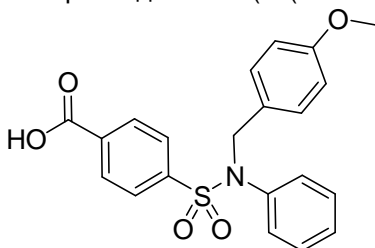
Приклад 5-17: 4-(N-(4-метоксибензил)-N-пропілсульфамоїл)бензойна кислота



20 Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і н-пропілброміду. МС (М-Н, 362.1); ¹Н ЯМР (400MHz, CDCl₃): δ, ppm: 0.70 (m, 3H), 1.35 (m, 3H), 3.08 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 4.31 (s, 2H), 6.83 (m, 2H), 7.17 (m, 2H), 7.93 (m, 2H), 8.23 (m, 2H).

25 IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 3.75 мкМ.

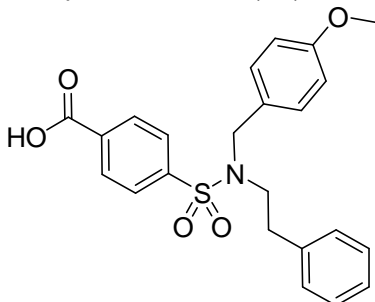
Приклад 5-18: 4-(N-(4-метоксибензил)-N-фенілсульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з аніліну, метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10с) і

1-(хлорметил)-4-метоксибензолу. МС (М+Н, 396.1); ^1H ЯМР (400МНз, DMCO-d_6): δ , ppm: 3.66 (s, 3H), 4.73 (s, 2H), 6.78 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.00 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 7.12 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 7.24 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 8.11(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 13.49(s, 1H).

Приклад 5-19: 4-(N-(4-метоксибензил)-N-фенетилсульфамоїл)бензойна кислота



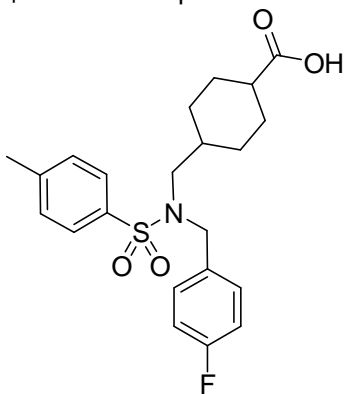
5

Одержували як у прикладі 5-10 з 2-фенілетанаміну, метил-4-(хлорсульфоніл)-бензоату (приклад 5-10с) і 1-(хлорметил)-4-метоксибензолу. МС (М+Н, 424.1); ^1H ЯМР (400МНз, DMCO-d_6): δ , ppm: 2.51 (m, 2H), 3.23 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.31 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 6.92 (m, 2H), 6.98 (m, 2H), 7.20-7.27 (m, 5H), 7.85 (m, 2H), 8.06 (m, 2H).

10 IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 4.58 мкМ.

Приклад 5-20:
циклогексанкарбонова кислота

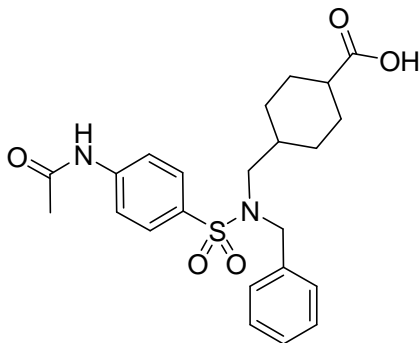
4-((N-(4-фторбензил)-4-метилфенілсульфонамідо)метил)-



15 Одержували як у прикладі 5-11 з 1-(бромметил)-4-фторбензолу, 4-(амінометил)циклогексанкарбонової кислоти й 4-метилбензол-1-сульфонілхлориду. МС (М+Н, 420); ^1H ЯМР (400МНз, DMCO-d_6): δ , ppm: 0.71 (m, 2H), 0.95 (m, 2H), 1.15 (br, s, 1H), 1.51 (d, 2H), 1.76(d, 2H), 2.0(1H), 2.40 (s, 3H), 2.85 (m, 2H), 4.22(s, 2H), 7.14(m, 2H), 7.32(m, 2H), 7.40(m, 2H), 7.69(m, 2H), 11.93(br, s, 1H).

20 IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 0.083 мкМ.

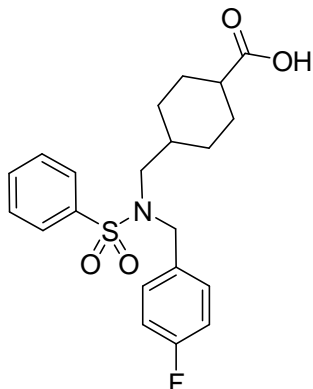
Приклад 5-21: 4-((4-ацетамідо-N-бензилфенілсульфонамідо)метил)-циклогексанкарбонова кислота



25 Одержували як у прикладі 5-11 з ацетамідобензол-1-сульфонілхлориду, 4-(амінометил)циклогексанкарбонової кислоти й бензилброміду. МС (М+Н, 445.2); ^1H ЯМР (400МНз, DMCO-d_6): δ , ppm: 0.65 (m, 2H), 0.68 (m, 2H), 1.05 (m, 1H), 1.48 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.92 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 2.82 (s, 2H), 4.21 (s, 2H), 7.27 (m, 5H), 7.76(m, 4H), 7.62(m, 2H), 10.1(s, 1H), 11.93(br, s, 1H).

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 1.619 мкМ.

Приклад 5-22: 4-((N-(4-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)-циклогексанкарбонова кислота



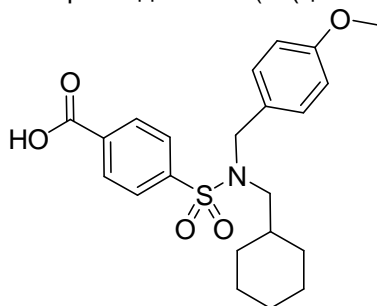
5

Одержували як у прикладі 5-11 з бензолсульфонілхлориду, 4-(амінометил)-циклогексанкарбонової кислоти й 1-(бромметил)-4-фторбензолу. МС (М+Н, 406); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 0.77 (m, 2H), 0.94 (m, 2H), 0.98 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.77 (m, 1H), 2.80 (d, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.20 (m, 2H), 7.38(m, 2H), 7.62(m, 2H), 7.70(m, 1H), 7.88(m, 2H), 11.93(br, s, 1H).

10

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 0.240 мкМ.

Приклад 5-23: 4-(N-(циклогексилметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензойна кислота



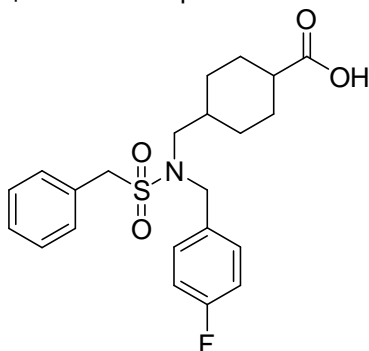
15

Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і циклогексилметанаміну. МС (М-Н, 416.1); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 0.63 (m, 2H), 0.87 (m, 3H), 0.94 (m, 1H), 1.25-1.52 (m, 5H), 1.70 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 4.22 (s, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.16 (m, 2H), 7.91(m, 2H), 7.62(m, 2H), 8.09(m, 2H).

20

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 3.47 мкМ.

Приклад 5-24: 4-((N-(4-фторбензил)-1-фенілметилсульфонамідо)метил)-циклогексанкарбонова кислота



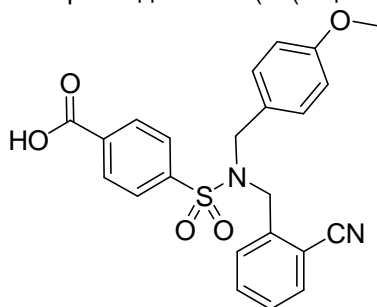
25

Одержували як у прикладі 5-10 з фенілметанесульфонілхлориду й метил-4-(амінометил)циклогексанкарбоксилату й 1-(бромметил)-4-фторбензолу. МС (М-Н, 418); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 0.639 (m, 2H), 0.897 (m, 2H), 1.034 (m, 1H), 1.467 (d, broad, 2H, J=11.2Hz), 1.709 (d, broad, 2H, J=11.2Hz), 1.961 (m, 1H), 2.828 (d, 2H, J=7.6Hz), 4.207(s, 2H), 4.449 (s, 2H), 7.155 (t, 2H, J=9.2Hz), 7.377 (m, 7H), 12 (s, broad, 1H)

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 9.57

мкМ.

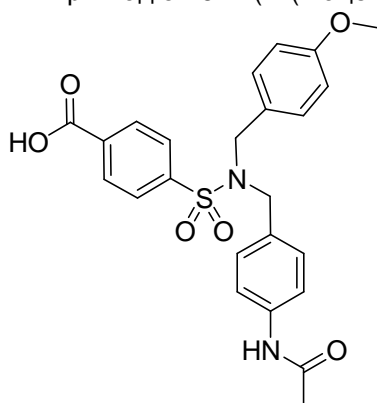
Приклад 5-25: 4-(N-(2-ціанобензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензоату (приклад 5-10b) і альфа-бром-о-толуїтрилу. МС (М-Н, 435.1); ¹Н ЯМР (400MHz, ДМСО-d6): δ, ppm: 3.664 (s, 2H), 4.348 (s, 2H), 4.498 (s, 2H), 6.728 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.036 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.352 (t, 2H, J=9.2Hz), 7.548 (t, 1H, J=7.6Hz), 7.640 (d, 1H, J=7.6 Hz), 8.003 (d, 2H, J=8 Hz), 8.139 (d, 2H, J=8.4Hz), 13.559 (s, broad, 1H).

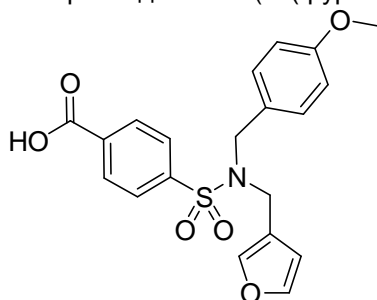
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 4.61 мкМ.

Приклад 5-26: 4-(N-(4-ацетамідобензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і N-(4-(хлорметил)феніл)ацетаміду. МС (М-Н, 467.1); ¹Н ЯМР (400MHz, ДМСО-d6): δ, ppm: 2.0(s, 3H), 3.69s, 3H), 4.23(s, 4H), 6.78(d, 2H, J=7.6Hz), 6.98(m, 4H), 7.41(d, 2H, J=8Hz), 7.94(d, 2H, J=8Hz), 8.09(d, 2H, J=8Hz), 9.90(s, 1H).

Приклад 5-27: 4-(N-(фуран-3-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота

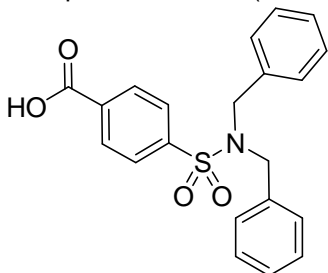


110 мг 1-(фуран-3-іл)-N-(4-метоксибензил)метанаміну (приклад 5-27a) змішували з метил-4-(хлорсульфоніл)бензоатом (приклад 5-10c) (117мг, 0.5ммоль) і триетиламіном (100 мкл) у ДХМ (5мл). Суміш перемішували всю ніч при температурі навколишнього середовища й концентрували. Залишок повторно розчиняли в етилацетаті (20 мл), промивали 1N HCl (водн., 2мл), а потім водою (5мл) і соляним розчином (5мл), потім сушили над сульфатом магнію. Неочищений продукт очищали методом препаративної ТСХ (40 % етилацетат/гексан) з одержанням метил-4-(N-(фуран-3-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату у виді білої твердої речовини. Омилення, проведене як у прикладі 5-10, дозволяло одержати 4-(N-(фуран-3-ілметил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойну кислоту у виді білої кристалічної твердої речовини (68 мг, 64 % вихід). МС (М-Н, 400.1); ¹Н ЯМР (400MHz, ДМСО-d6): δ, ppm: 3.72(s, 3H), 4.13(s, 2H), 4.26(s, 2H), 5.99 (s, 1H), 6.87 (m, 4H), 6.87 (d, 2H, J=8.8Hz), 7.13 (d, 2H, J=8.8Hz), 7.39 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.95 (d, 2H, J=8.4Hz), 8.09 (d, 2H, J=8.8Hz).

Приклад 5-27а: 1-(фуран-3-іл)-N-(4-метоксибензил)метанамін

Суміш 3-фуральдегіду (5 ммоль, 437 мкл) і (4-метоксифеніл)метанаміну в MeOH (20 мл) перемішували при температурі навколишнього середовища всю ніч, потім повільно додавали боргідрид натрію (300 мг, 7.89 ммоль). Суміш, що утворилася, перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин і гасили NaOH (1 N, водн.). Метанол видаляли у вакуумі й потім утворену зв'язь повторно розчиняли в етилацетаті, промивали водою, соляним розчином, сушили над сульфатом натрію й концентрували. Після очищення методом хроматографії на силікагелі (етилацетат:гексан 7:3) одержували 1-(фуран-3-іл)-N-(4-метоксибензил)метанамін у виді олії. МС (M+H, 218.10); ¹H ЯМР (400MHz, CDCl₃): δ, ppm: 3.64 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 6.39 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.35(m, 1H), 7.38(m, 1H).

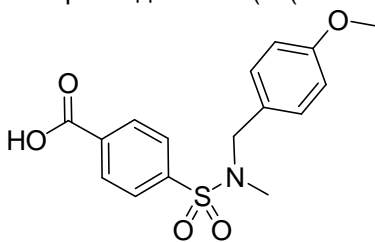
Приклад 5-28: 4-(N, N-дибензилсульфамойл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-27 з дибензиламіну й метил-4-(хлорсульфоніл)-бензоату (приклад 5-10с). МС (M-H, 380.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 4.52 (s, 4H), 7.10 (m, 4H), 7.25 (m, 6H), 8.00 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.15 (d, 2H J=8.4 Hz), 13.5 (s, broad, 1H).

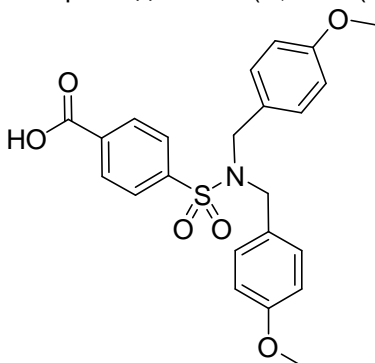
IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 7.74 мкМ.

Приклад 5-29: 4-(N-(4-метоксибензил)-N-метилсульфамойл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-27 з 1-(4-метоксифеніл)-N-метилметанаміну й метил-4-(хлорсульфоніл)-бензоату (приклад 5-10с). МС (M-H, 335.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 2.51 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.05 (s, 2H), 6.88 (d, 2H), 7.18 (d, 2H), 7.91 (d, 2H); 8.13 (d, 2H). Елементний аналіз: (експер.): C 57.47 %, H 4.77 % й N 4.31 %; (теоретич.): C 57.30 %, H 5.11 % й N 4.18 %

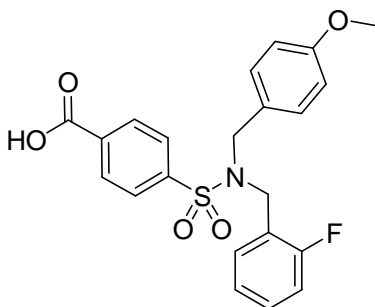
Приклад 5-30: 4-(N, N-біс(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-27 з біс(4-метоксибензил)аміну й метил-4-(хлорсульфоніл)-бензоату (приклад 5-10с). МС (M-H, 440.1); ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ, ppm: 3.68 (s, 6H), 4.20 (s, 4H), 6.77 (d, 4H, J=10 Hz), 6.98 (d, 4H, J=10 Hz), 7.92 (dd, 2H J=8 Hz), 8.06(dd, 2H, J=8 Hz). Елементний аналіз: (експер.): C 62.45 %, H 5.19 % й N 3.06 %; (теоретич.): C 62.57 %, H 5.25 % й N 3.17 %

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 4.14 мкМ.

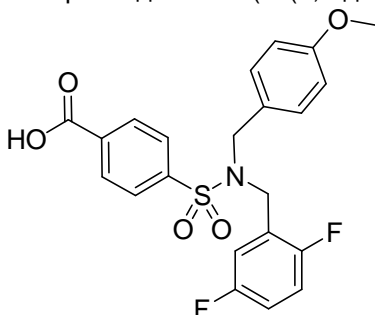
Приклад 5-31: 4-(N-(2-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензоату (приклад 5-10b) і 1-(бромметил)-2-фторбензолу. ^1H ЯМР (400MHz, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.66 (s, 3H), 4.29 (s, 2H), 4.37(s, 2H), 6.72 (d, 2H, $J=8$ Hz), 7.01-7.03 (m, 6H), 7.93 (d, 2H, $J=8$ Hz), 8.08 (d, 2H, $J=8$ Hz).

5

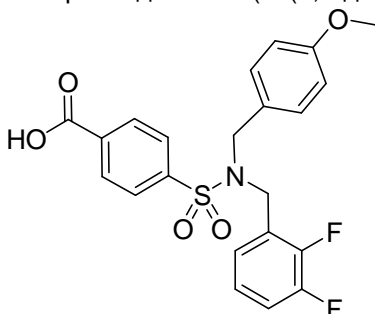
Приклад 5-32: 4-(N-(2,5-дифторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензоату (приклад 5-10b) і 2-(бромметил)-1,4-дифторбензолу. ^1H ЯМР (400MHz, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.66 (s, 3H), 4.31 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 6.74-7.06 (m, 7H), 7.95 (d, 2H, $J=8$ Hz), 8.09 (d, 2H, $J=8$ Hz).

10

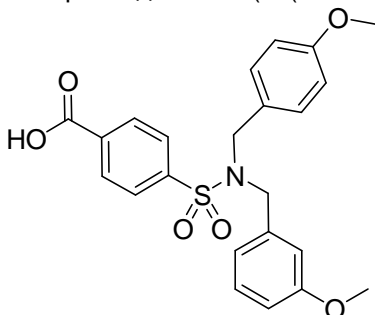
Приклад 5-33: 4-(N-(2,3-дифторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензойна кислота



Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензоату (приклад 5-10b) і 1-(бромметил)-2,3-дифторбензолу. ^1H ЯМР (400MHz, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.30 (s, 3H), 4.29 (s, 2H), 4.32(s, 2H), 6.87 (d, 2H, $J=8$ Hz), 7.02-7.20 (m, 5H), 7.95 (d, 2H, $J=8$ Hz). 8.05 (d, 2H, $J=8$ Hz).

15

Приклад 5-34: 4-(N-(3-метоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)-бензойна кислота

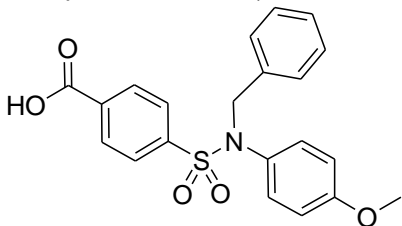


Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоїл)бензоату (приклад 5-10b) і 3-метоксибензилброміду. МС (M-H, 440.50); ^1H ЯМР (400MHz, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.58(s, 3H), 3.68(s, 3H), 4.24(s, 2H), 4.25(s, 2H), 6.50(s, 1H), 6.64(d, $J=4$ Hz, 1H), 6.73(m, 1H), 6.77(d, $J=8$ Hz, 2H), 7.00(d, $J=8$ Hz, 2H), 7.12(t, $J=8$ Hz, 1H), 7.94(d, $J=8$ Hz, 2H), 8.09(d, $J=8$ Hz, 2H), 13.49(s, 1H).

20

IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 2.46 мкМ.

Приклад 5-35: 4-(N-бензил-N-(4-метоксифеніл)сульфамоіл)бензойна кислота

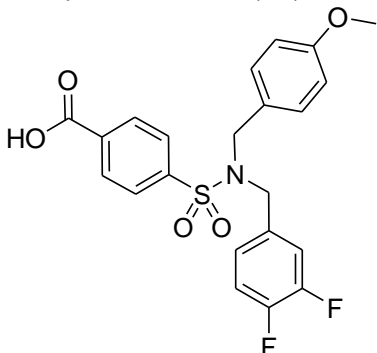


5 Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(N-(4-метоксифеніл)сульфамоіл)-бензоату (приклад 5-35a) і бензилброміду. МС (М-Н, 396); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.66(s, 3H), 4.75(s, 2H), 6.76(d, J=8 Hz, 2H), 6.90(d, J=8 Hz, 2H), 7.23(m, 5H), 7.74(d, J=8 Hz, 2H), 8.11(d, J=8 Hz, 2H), 13.51(s, 1H).

Приклад 5-35a: Метил-4-(N-(4-метоксифеніл)сульфамоіл)бензоат

10 [0417] До 4-метоксибензоламіну (580 мг, 4.71 ммоль) і триетиламіну (1.48 мл, 10.7 ммоль) у дихлорметані (10 мл) додавали метил-4-(хлорсульфоніл)бензоат (1.00 г, 4.28 ммоль). Цю суміш перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (50 мл) і промивали послідовно водою, 10 % лимонною кислотою й сольовим розчином. Органічні фази сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Неочищену речовину, що утворилася, хроматографували на силікагелі із застосуванням 100 % дихлорметану як елюента, одержуючи метил-4-(N-(4-метоксифеніл)сульфамоіл)бензоат у виді білої кристалічної твердої речовини (400 мг, 30 % вихід).

Приклад 5-36: 4-(N-(3,4-дифторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота

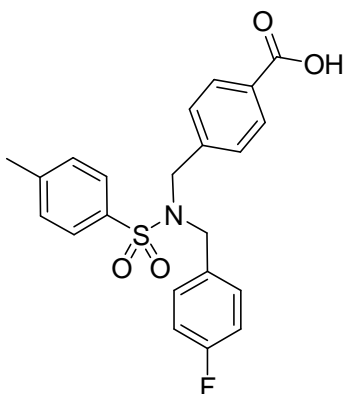


20 [0418] Одержували як у прикладі 5-10 з N-(3,4-дифторбензил)(4-метоксифеніл)-метанаміну (приклад 5-36a) і метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10c). МС (М-Н, 446); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ ppm: 3.69 (s, 3H), 4.20 (s, 4H), 6.73 (d, J=8.8 Гц, 2H), 6.93 (m, 2H), 6.98 (d, J=8.8 Гц, 2H), 7.22 (m, 1H), 7.74(d, J=8.4 Гц, 2H), 7.99 (d, J=8.4 Гц, 2H).

25 Приклад 5-36a: N-(3,4-дифторбензил)(4-метоксифеніл)метанамін

[0419] До (4-метоксифеніл)метанаміну (1.77 мл, 13.6 ммоль) і оцтової кислоти (2.7 мл, 45 ммоль) у дихлорметані (15 мл) додавали 3,4-дифторбензальдегід (1.0 мл, 9.08 ммоль). Цю суміш нагрівали в мікрохвильовій печі при 100 °С протягом 15 хв. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й порціями додавали крупнопористу ціанборогідридну смолу (9.8 г, 22.7 ммоль). Цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Смола відфільтровували й промивали дихлорметаном, і органічні речовини промивали насиченим бікарбонатом натрію до припинення газоутворення. Органічні речовини сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Неочищену речовину, що утворилася, очищали методом хроматографії на силікагелі із застосуванням градієнта метанол-дихлорметан як елюента і одержували N-(3,4-дифторбензил)(4-метоксифеніл) метанамін у виді жовтуватої олії (1.9 г, 80 % вихід). МС (М+Н, 264); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 2.63 (br s, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 6.84 (d, J=8.8 Гц, 2 H), 7.14 (m, 1H), 7.21 (d, J=8.4 Гц, 2H), 7.34 (m, 2H).

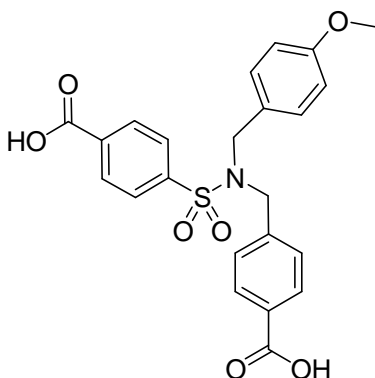
Приклад 5-37: 4-((N-(4-фторбензил)-4-метилфенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота



[0420] Одержували як у прикладі 5-11 з 4-(амінометил)фенілкарбонової кислоти, 4-метилбензол-1-сульфонілхлориду й 4-фторбензилброміду. ^1H ЯМР (400МГц, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.11 (s, 3H), 4.21 (s, 2H), 4.24(s, 2H), 6.94-7.08 (m, 6H), 7.40-7.42 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 7.63 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 7.73 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$).

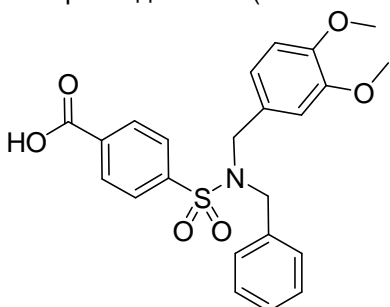
[0421] IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гірког смаку hT2R14 склала 0.054 мкМ.

Приклад 5-38: 4-((4-карбокси-N-(4-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота



[0422] Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(бромметил)бензоату й метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензоату (приклад 5-10b). ^1H ЯМР (400МГц, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.65 (s, 3H), 4.24 (s, 2H), 4.33(s, 2H), 6.71 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 6.95 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 7.14 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 7.73 (d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 7.89(d, 2H, $J=8\text{Гц}$), 8.06(d, 2H, $J=8\text{Гц}$).

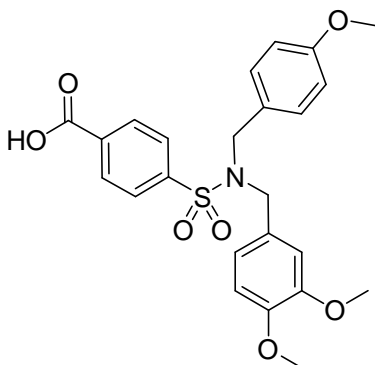
Приклад 5-39: 4-(N-бензил-N-(3,4-диметоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота



[0423] Одержували як у прикладі 5-10 з (3,4-диметоксифеніл)метанаміну, метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10c) і бензилхлориду. МС (М-Н, 440.10); ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD): δ , ppm: 3.59 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 4.30 (s, 2H), 4.36 (s, 2H), 6.51 (d, 1H, $J=1.7\text{Гц}$), 6.60 (m, 1H), 6.76 (d, 1H, $J=8.2\text{Гц}$), 7.12 (m, 2H), 7.21 (m, 3H), 7.95 (d, 2H, $J=8.6\text{Гц}$), 8.18 (d, 2H, $J=8.6\text{Гц}$).

[0424] IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гірког смаку hT2R14 склала 0.678 мкМ.

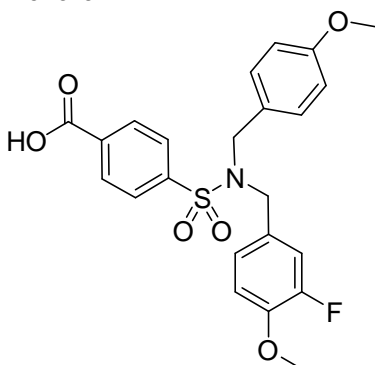
Приклад 5-40: 4-(N-(3,4-диметоксибензил)-N-(4-метоксибензил) сульфамоіл)бензойна кислота



[0425] Одержували як у прикладі 5-10 з (3,4-диметоксифеніл)метанаміну, метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10с) і 4-метоксибензилброміду. МС (М-Н, 470.10); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d6): δ, ppm: 3.49 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 4.20 (s, 2H), 4.22 (s, 2H), 6.41 (d, 1H, J=1.4 Гц), 6.58 (dd, 1H, J1=8.2 Гц, J2=1.4 Гц), 6.78 (m, 3H), 7.02 (d, 2H, J=8.6 Гц), 7.94 (d, 2H, J=8.4 Гц), 8.09 (d, 2H, J=8.4 Гц).

[0426] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 1.47 мкМ.

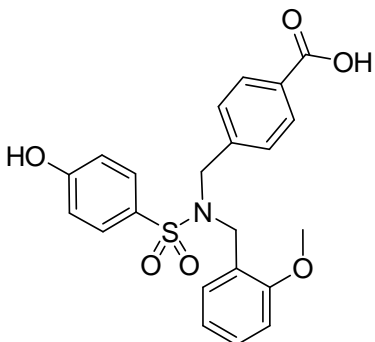
Приклад 5-41: 4-(N-(3-фтор-4-метоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)-бензойна кислота



[0427] Одержували як у прикладі 5-10 з 4-(бромметил)-2-фтор-1-метоксибензолу й метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензоату (приклад 5-10b). МС (М-Н, 458.10); ¹Н ЯМР (400МГц, CD₃OD): δ, ppm: 3.73 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 4.24 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 6.75 (m, 4H), 6.88 (m, 1H), 6.97 (d, 2H, J=8.6 Гц), 7.88 (d, 2H, J=8.3 Гц), 8.14 (d, 2H, J=8.3 Гц).

[0428] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 1.11 мкМ.

Приклад 5-42: 4-((4-гідрокси-N-(2-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота



[0429] 4-(N-(2-метоксибензил)сульфамойл)фенілацетат (приклад 5-42a) (50 мг, 0.15 ммоль) розчиняли в ацетоні (1.0 мл), а потім додавали карбонат цезію (97 мг, 0.30 ммоль) і метил-4-(бромметил)бензоат (38 мг, 0.17 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, і потім неорганічні солі відфільтровували. Ацетон видаляли під вакуумом, і залишок повторно розчиняли в етилацетаті й промивали водою, а потім сольовим розчином. Органічну фазу сушили над сульфатом магнію й концентрували. Неочищений продукт очищали методом колонкової хроматографії із застосуванням етилацетату/гексану як елюента з одержанням метил-4-((4-ацетокси-N-(2-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензоату.

[0430] Метил-4-((4-ацетокси-N-(2-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензоат (неочищений) розчиняли в ТГФ (1.0 мл) і обробляли водним NaOH (1N, 2.0 мл, 2.0 ммоль). Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом години. По завершенню ТГФ видаляли під вакуумом, і водний розчин, що утворився, підкисляли 6 N водн. HCl до pH ~3. Водну фазу екстрагували EtOAc (2 × 15 мл) і об'єднані органічні фази промивали водою, сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений продукт очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ із одержанням 10.8 мг вищезгаданої сполуки (15 % вихід у двох стадіях). МС (М+Н, 426.1); ¹H ЯМР (400МГц, ацетон-d₆): δ, ppm: 3.65 (s, 3H), 4.37 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 6.79 (m, 2H), 7.01 (d, 2H, J=8.0 Гц), 7.17 (m, 2H), 7.28 (d, 2H, J=7.9 Гц), 7.73 (d, 2H, J=8.0 Гц), 7.87 (d, 2H, J=7.9 Гц).

[0431] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 2.56 мкМ.

Приклад 5-42a: 4-(N-(2-метоксибензил)сульфамойл)фенілацетат

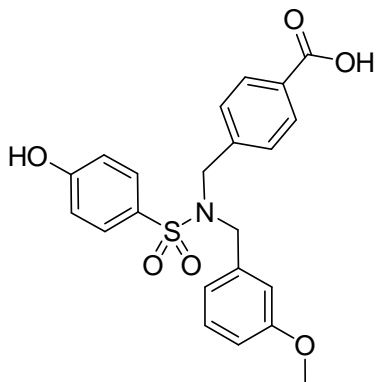
[0432] Розчин 4-(хлорсульфоніл)фенілацетату (приклад 5-42b) (531 мг, 2.265 ммоль) в 5.0 мл дихлорметану, охолоджували до 0 °С на крижаній бані. Додавали (2-метоксифеніл)метанамін (325 мкл, 2.492 ммоль) і триетиламін (347 мкл, 2.492 ммоль). Потім баню з льодом видаляли, і суміш нагрівали до температури навколишнього середовища й перемішували протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували й очищали неочищений продукт методом колонкової хроматографії (гексан/етилацетат = 90/10-30/70) з одержанням чистого 4-(N-(2-метоксибензил)сульфамойл)фенілацетату (743 мг, 89 %) у виді білої твердої речовини. МС (М+Н, 336.1) ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃): δ, ppm: 2.32 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.18 (d, 2H, J=5.8 Гц), 5.15 (t, 1H, J=5.8 Гц), 6.71 (d, 1H, J=8.2 Гц), 6.82 (br t, 1H, J=7.4 Гц), 7.07 (br d, 1H, J=7.4 Гц), 7.10 (d, 2H, J=8.7 Гц), 7.19 (br t, 1H, J=7.8 Гц), 7.74 (d, 2H, J=8.7 Гц).

Приклад 5-42b: 4-(хлорсульфоніл)фенілацетат

[0433] 6. 285 г (36.08 ммоль) 4-гідроксибензолсульфо кислоти розчиняли в суміші 30 мл оцтового ангідриду й 15 мл оцтової кислоти й кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 6 годин. Летучі компоненти випаровували й поміщали в глибокий вакуум на всю ніч. Неочищений продукт, що утворився, розчиняли в 100 мл ДХМ й обробляли 4.72 мл оксалілхлориду (54.12 ммоль) і 139 мкл ДМФ (1.804 ммоль) при 0 °С. Продовжували перемішування до припинення виділення газу, потім реакційну суміш концентрували й повторно розчиняли в EtOAc. Органічну фазу промивали двічі 2 N H₂SO₄ і сушили за допомогою сольового розчину й MgSO₄. Після концентрування одержували 7.067 г 4-(хлорсульфоніл)фенілацетату у виді темної густої олії, яка згодом затвердівала (83 % вихід у двох стадіях).

[0434] ¹H-ЯМР (400МГц, CDCl₃): δ, ppm: 2.35 (s, 3H), 7.37 (d, 2H, J=8.9 Гц), 8.06 (d, 2H, J=8.9 Гц). ¹³C-ЯМР (100 МГц, CDCl₃): δ, ppm: 21.13, 123.05, 128.91, 141.15, 155.80, 168.29.

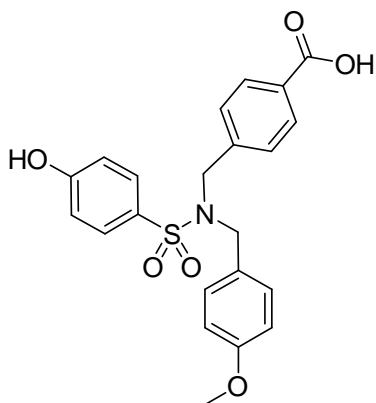
Приклад 5-43: 4-((4-гідрокси-N-(3-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота



[0435] Одержували як у прикладі 5-42 з (3-метоксифеніл)метанаміну й метил-4-(бромметил)бензоату. МС (М+Н, 426.10); ¹H ЯМР (400МГц, ацетон-d₆): δ, ppm: 3.66 (s, 3H), 4.32 (s, 2H), 4.40 (s, 2H), 6.65 (br s, 1H), 6.73 (m, 2H), 7.05 (d, 2H, J=8.5 Гц), 7.12 (t, 1H, J=8.0 Гц), 7.27 (d, 2H, J=8.0 Гц), 7.82 (d, 2H, J=8.5 Гц), 7.88 (d, 2H, J=8.0 Гц).

[0436] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 0.188 мкМ.

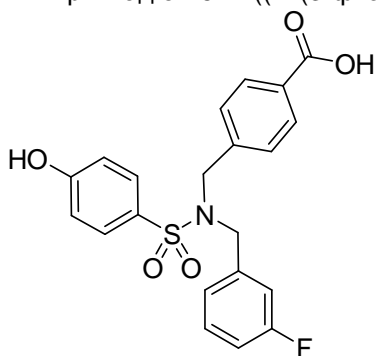
Приклад 5-44: 4-((4-гідрокси-N-(4-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота



[0437] Одержували як у прикладі 5-42 з (4-метоксифеніл)метанаміну й метил-4-(бромметил)бензоату. МС (М+Н, 426.10); ¹Н ЯМР (400МГц, ацетон-d₆): δ, ppm: 3.73 (s, 3H), 4.27 (s, 2H), 4.35 (s, 2H), 6.76 (d, 2H, J=8.0 Гц), 7.04 (d, 4H), 7.24 (d, 2H, J=7.8 Гц), 7.79 (d, 2H, J=8.2 Гц), 7.88 (d, 2H, J=7.8 Гц).

[0438] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 3.43 мкМ.

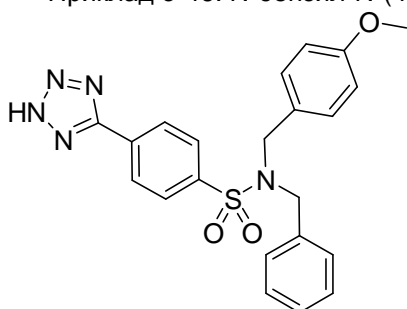
Приклад 5-45: 4-((N-(3-фторбензил)-4-гідроксифенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота



[0439] Одержували як у прикладі 5-42 з (3-фторфеніл)метанаміну й метил-4-(бромметил)бензоату. МС (М+Н, 414.1), ¹Н ЯМР (400МГц, ацетон-d₆): δ, ppm: 4.37 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 6.94 (m, 3H), 7.06 (d, 2H, J=8.3 Гц), 7.21 (m, 1H), 7.28 (d, 2H, J=7.6 Гц), 7.81 (d, 2H, J=8.3 Гц), 7.87 (d, 2H, J=7.6 Гц).

[0440] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R14 склала 0.459 мкМ.

Приклад 5-46: N-бензил-N-(4-метоксибензил)-4-(1H-тетразол-5-іл)бензол-сульфонамід



[0441] N-бензил-4-ціано-N-(4-метоксибензил)бензолсульфонамід (приклад 5-46а, 400 мг, 1 ммоль) і азид триметилолова (400 мг, 2 ммоль) розчиняли в толуолі (10 мл) і піддавали дії мікрохвильового випромінювання при 150 °С протягом 3 годин. Додавали додаткові 2 еквіваленти азиду триметилолова, і реакційну суміш піддавали дії мікрохвильового випромінювання при 150 °С протягом ще 3 годин. Суміш охолоджували й фільтрували з одержанням неочищеного тетразолу олова, який гідролізували в МЕОН/конц. НСІ (50 мл: 20 мл). Додавали воду й утворений осад збирали за допомогою фільтрування. Продукт перекристалізовували з абсолютного етанолу й води з одержанням N-бензил-N-(4-метоксибензил)-4-(1H-тетразол-5-іл)бензол-сульфонамід у виді білої твердої речовини. МС (М+Н, 436.10); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.65(s, 3H), 4.27(s, 2H), 4.30(s, 2H), 6.75(d, J=8.4 Гц, 2H), 6.98(d, J=8.4 Гц, 2H), 7.08(m, 2H), 7.20(m, 3H), 8.05(d, J=8.4 Гц, 2H), 8.22(d, J=9.2 Гц, 2H).

[0442] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 3.67 мкМ.

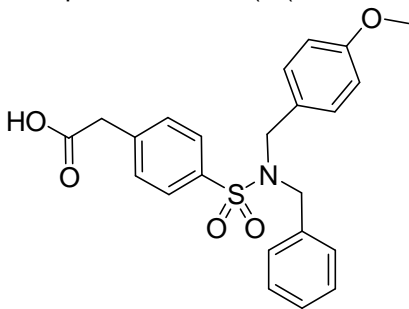
Приклад 5-46a: N-бензил-4-ціано-N-(4-метоксибензил)бензолсульфонамід

[0443] 4-Ціанобензол-1-сульфонілхлорид (600 мг, 3 ммоль) додавали до розчину N-бензил-1-(4-метоксифеніл)метанаміну (приклад 5-46b, 750 мг, 3.3 ммоль) і триетиламіну (500 мг, 3.6 ммоль) у дихлорметані (15 мл). Реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 4 годин, потім концентрували на роторному випарнику. Неочищену речовину очищали на силікагелі з одержанням N-бензил-4-ціано-N-(4-метоксибензил)бензолсульфонамід у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.68(s, 3H), 4.26(s, 2H), 4.31(s, 2H), 6.75(d, J=8.4 Гц, 2H), 6.97(d, J=9.2 Гц, 2H), 7.07(m, 2H), 7.21(m, 3H), 7.98(d, J=8.4 Гц, 2H), 8.04(d, J=8.8 Гц, 2H).

Приклад 5-46b: N-бензил-1-(4-метоксифеніл)метанамін.

[0444] 4-метоксибензальдегід (5 г, 35 ммоль) і бензиламін (3.8 г, 35 ммоль) додавали до триацетоксиборгідриду натрію (10.4 г, 49 ммоль) у дихлоретані (125 мл). Реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 2 години, потім концентрували. Суміш розбавляли дихлорметаном (200 мл), промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію (200 мл), сольовим розчином (200 мл) і сушили над сульфатом магнію. Неочищений амін концентрували й очищали методом хроматографії на силікагелі (70 % етилацетат у гексані) з одержанням N-бензил-1-(4-метоксифеніл)метанаміну у виді олії. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.59(s, 2H), 3.64(s, 2H), 3.71(s, 3H), 6.86(d, J=8.8 Гц, 2H), 7.28(m, 7H).

Приклад 5-47: 2-(4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)феніл)оцтова кислота

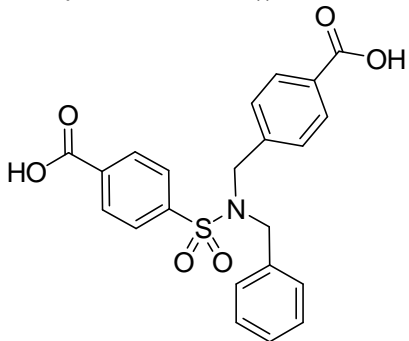


[0445] Одержували як у прикладі 5-27 з метил-2-(4-(хлорсульфоніл)феніл)ацетату (приклад 5-47a), 4-метоксибензальдегід у бензиламіні. МС (М+Н, 424.10); ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.66(s, 3H), 3.72(s, 2H), 4.18(s, 2H), 4.22(s, 2H), 6.73(d, J=8.4 Гц, 2H), 6.91(d, J=8.4 Гц, 2H), 7.02(m, 2H), 7.19(m, 3H), 7.49(d, J=8.4 Гц, 2H), 7.80(d, J=8 Гц, 2H).

Приклад 5-47a: Метил-2-(4-(хлорсульфоніл)феніл)ацетат

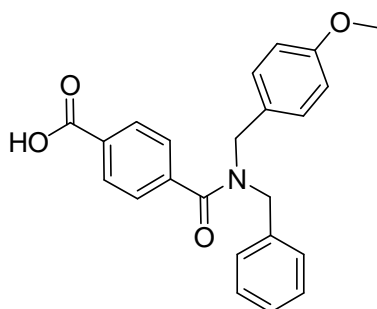
[0446] 2-(4-(Хлорсульфоніл)феніл)оцтову кислоту (600 мг, 2.6 ммоль) додавали до тіонілхлориду (3 мл) і нагрівали при 80 °С протягом 1 години. Реакційну суміш концентрували, охолоджували до 0 °С на крижаній бані й додавали по краплях крижаний метанол. Суміш перемішували протягом 30 хвилин і концентрували з одержанням метил-2-(4-(хлорсульфоніл)феніл)-ацетату у виді олії. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.57 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 7.21 (d, J=8 Гц, 2H), 7.55 (d, J=8 Гц, 2H).

Приклад 5-48: 4-((N-бензил-4-карбоксифенілсульфонамід)метил)бензойна кислота



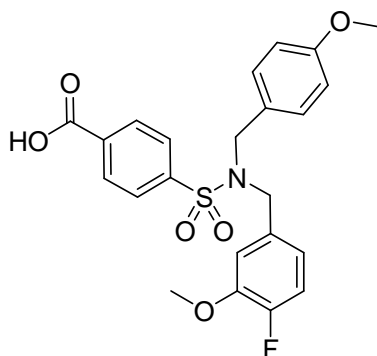
[0447] Одержували як у прикладі 5-10 з метил-4-(хлорсульфоніл)бензоату (приклад 5-10с), бензиламінін і метил-4-(бромметил)бензоату. МС (М+Н, 426.10); ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 4.29(s, 2H), 4.34(s, 2H), 7.03(m, 2H), 7.12(m, 2H), 7.68(d, J=8 Гц, 2H), 7.94(d, J=8.8 Гц, 2H), 8.06(d, J=8.8 Гц, 2H), 13.03(s, 2H).

Приклад 5-49: 4-(бензил(4-метоксибензил)карбамоіл)бензойна кислота



[0448] Одержували як у прикладі 5-27 з 4-(хлоркарбоніл)бензоату й N-бензил-1-(4-метоксибеніл)метанаміну. ^1H ЯМР (400МГц, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.72(d, $J=7.6$ Гц, 3H), 4.26(s, 1H), 4.30(s, 1H), 4.50(s, 1H), 4.55(s, 1H), 6.89(m, 2H), 7.02(m, 1H), 7.10(m, 1H), 7.10(m, 1H), 7.20(m, 1H), 7.28(m, 4H), 7.55(m, 2H), 7.96(m, 2H), 13.13(s, 1H).

Приклад 5-50: 4-(N-(4-фтор-3-метоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)-бензойна кислота



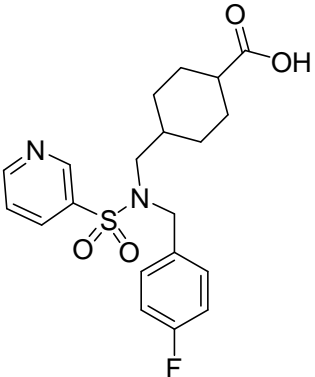
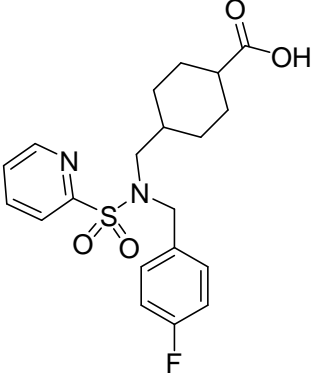
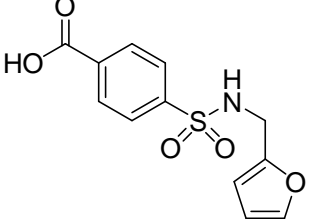
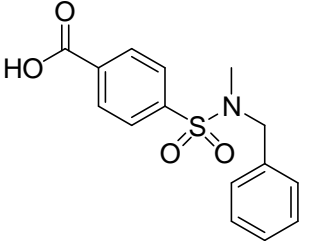
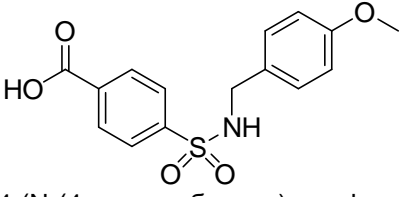
[0449] Одержували як у прикладі 5-10 з 4-(бромметил)-4-фтор-3-метоксибензолу й метил-4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензоату (приклад 5-10b). МС (М-Н, 458.10); ^1H ЯМР (400МГц, ДМСО- d_6): δ , ppm: 3.59(s, 3H), 3.67(s, 3H), 4.25(s, 2H), 4.25(s, 2H), 6.62(m, 2H), 6.77(d, $J=8.4$ Гц, 2H), 7.02(m, 3H), 7.97(d, $J=8$ Гц, 2H), 8.01(d, $J=8.8$ Гц, 2H), 13.49(s, 1H).

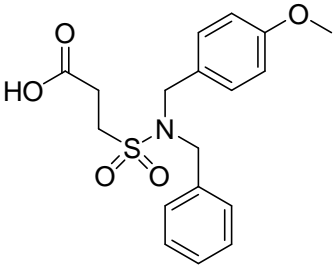
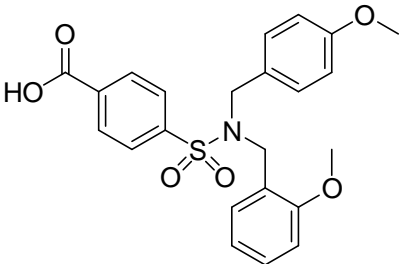
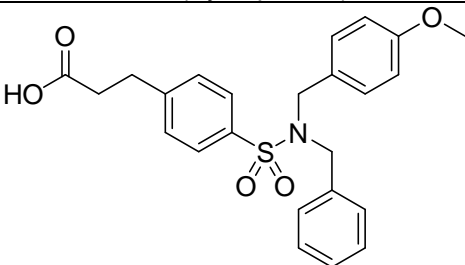
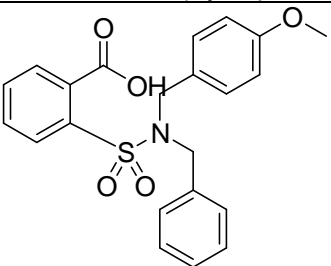
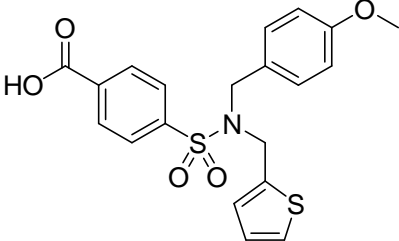
[0450] IC_{50} для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 1.65 мкМ.

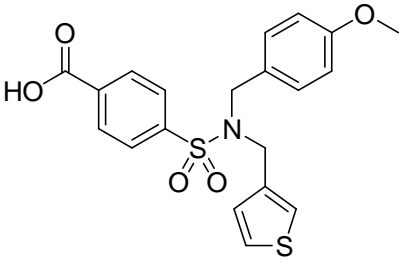
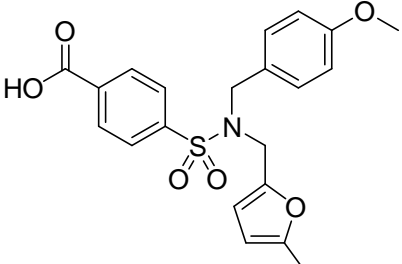
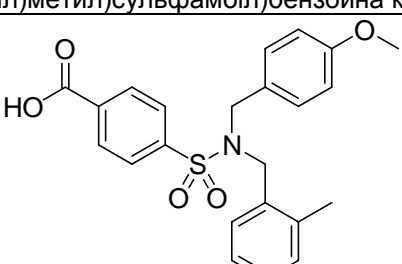
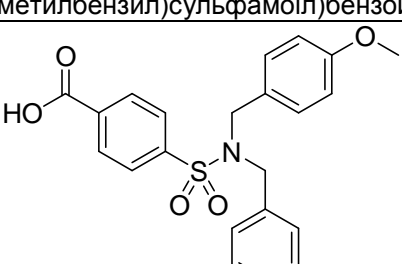
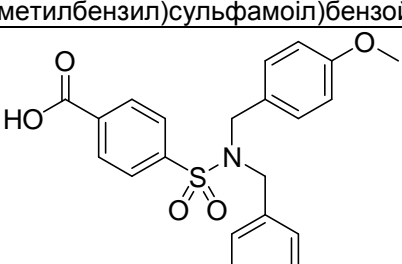
[0451] Додаткові сполуки експериментально досліджували й виявили, що вони мають відносно високий рівень ефективності як інгібітори рецептора гіркового смаку hT2R14. Результати цього дослідження наведені нижче в таблиці С.

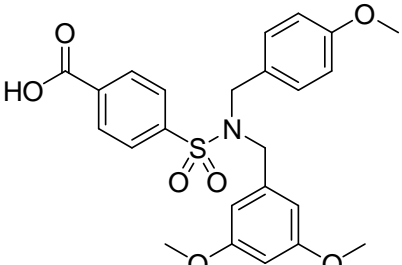
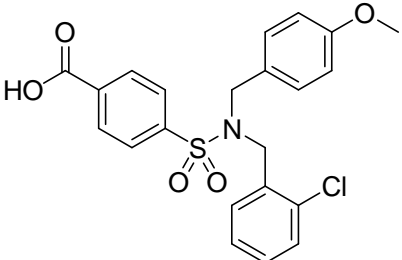
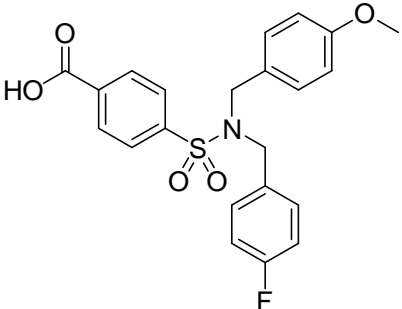
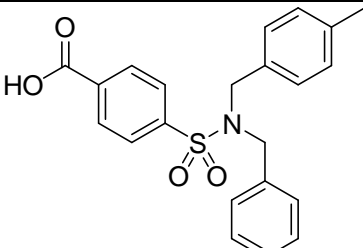
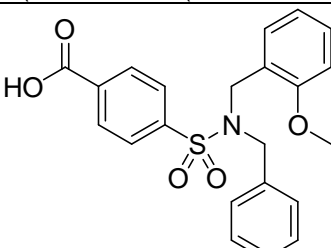
Таблиця С

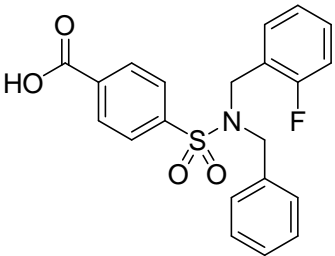
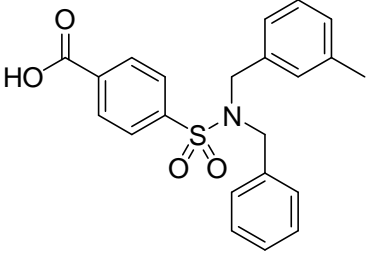
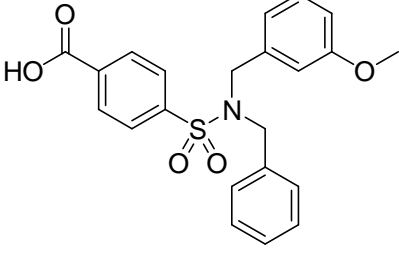
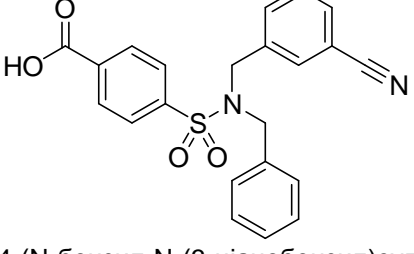
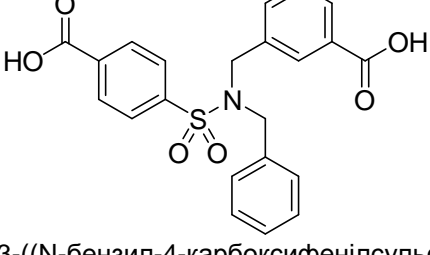
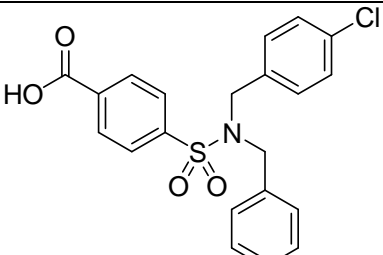
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC_{50} (мкМ)
5-51	<p>4-((N-(4-фторбензил)тіофен-2-сульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.342

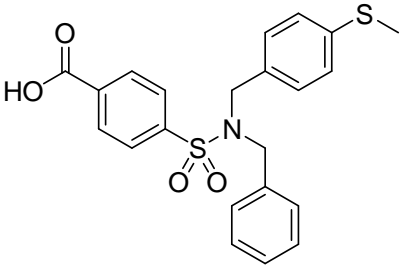
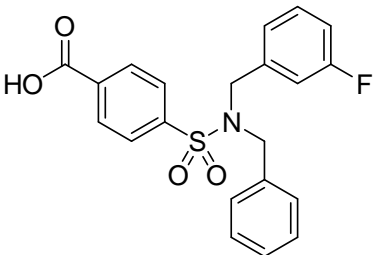
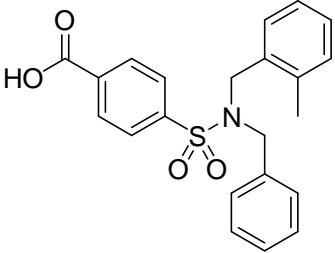
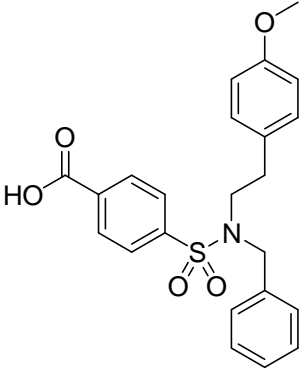
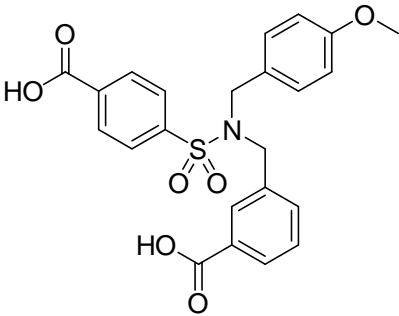
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-52	 <p>4-((N-(4-фторбензил)піридине-3-сульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	8.434
5-53	 <p>4-((N-(4-фторбензил)піридине-2-сульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	
5-54	 <p>4-(N-(фуран-2-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-55	 <p>4-(N-бензил-N-метилсульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-56	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	

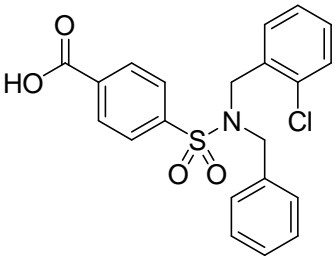
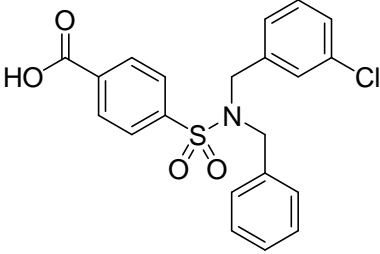
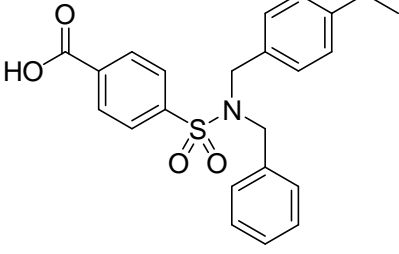
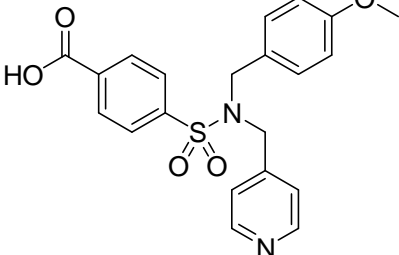
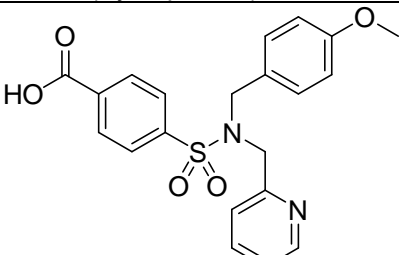
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-57	 <p>3-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)пропанова кислота</p>	
5-58	 <p>4-(N-(2-метоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	2.943
5-59	 <p>3-(4-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)феніл)пропанова кислота</p>	
5-60	 <p>2-(N-бензил-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-61	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(тіофен-2-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	

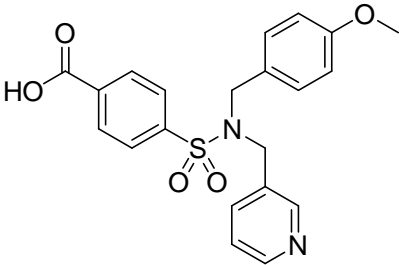
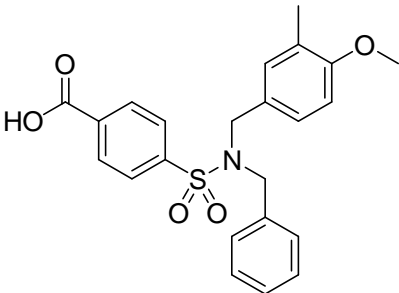
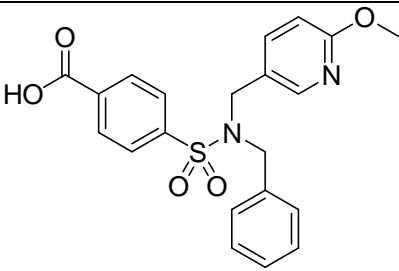
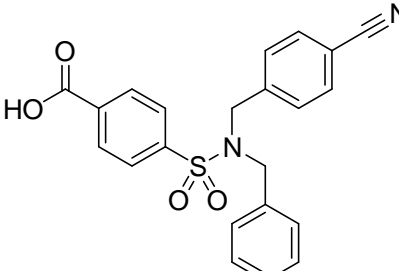
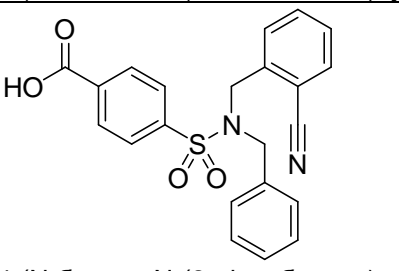
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-62	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(тіофен-3-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-63	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-((5-метилфуран-2-іл)метил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-64	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(2-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-65	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(3-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-66	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(4-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	

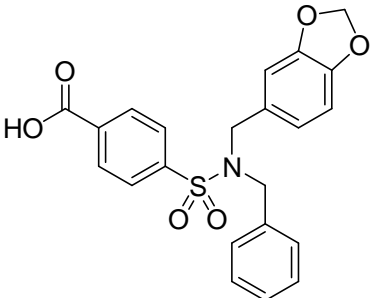
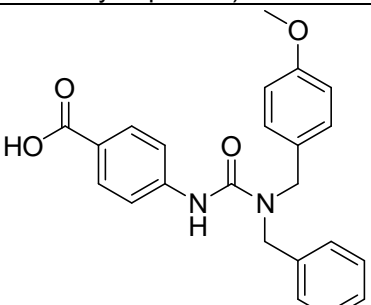
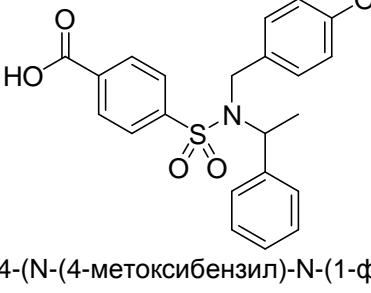
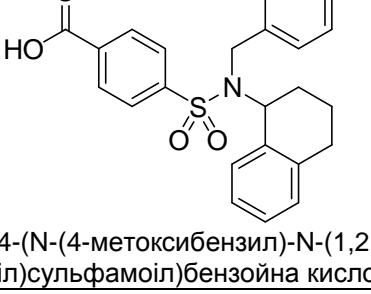
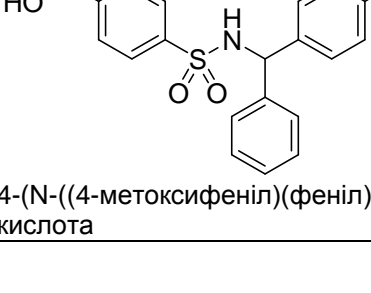
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-67	 <p>4-(N-(3,5-диметоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	12.141
5-68	 <p>4-(N-(2-хлорбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	7.044
5-69	 <p>4-(N-(4-фторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	8.283
5-70	 <p>4-(N-бензил-N-(4-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	5.394
5-71	 <p>4-(N-бензил-N-(2-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	5.061

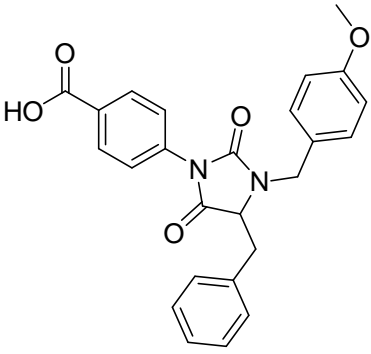
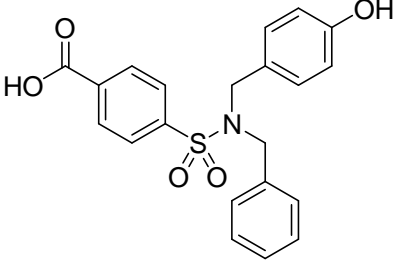
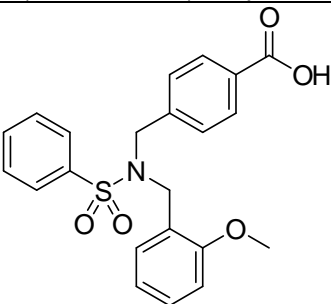
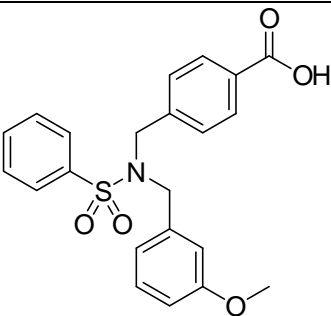
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-72	 4-(N-бензил-N-(2-фторбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	6.164
5-73	 4-(N-бензил-N-(3-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.290
5-74	 4-(N-бензил-N-(3-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота	5.991
5-75	 4-(N-бензил-N-(3-ціанобензил)сульфамоіл)бензойна кислота	
5-76	 3-((N-бензил-4-карбоксифенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	
5-77	 4-(N-бензил-N-(4-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	3.977

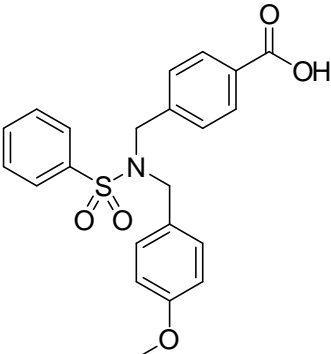
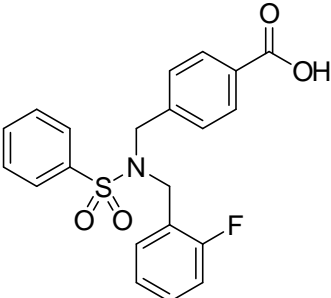
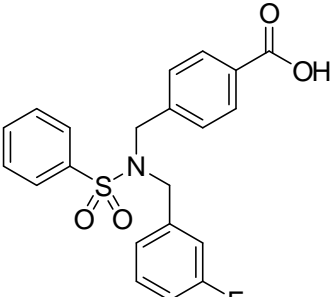
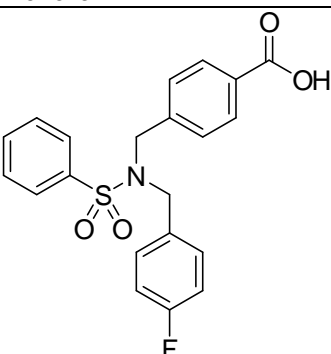
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-78	 4-(N-бензил-N-(4-(метилтіо)бензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.458
5-79	 4-(N-бензил-N-(3-фторбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.310
5-80	 4-(N-бензил-N-(2-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.926
5-81	 4-(N-бензил-N-(4-метоксифенетил)сульфамоіл)бензойна кислота	
5-82	 3-((4-карбокси-N-(4-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	

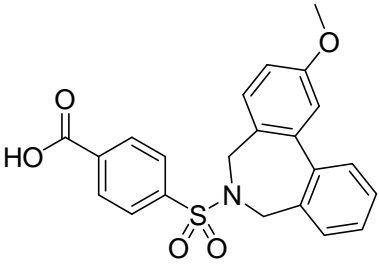
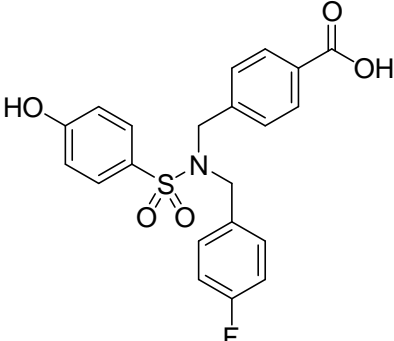
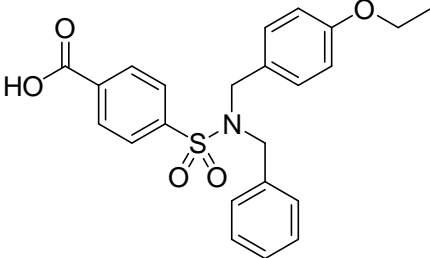
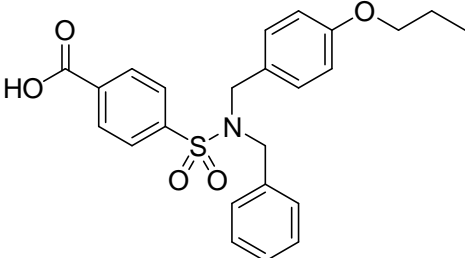
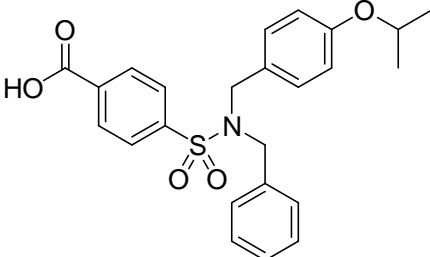
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-83	 4-(N-бензил-N-(2-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	4.486
5-84	 4-(N-бензил-N-(3-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	4.286
5-85	 4-(N-бензил-N-(4-етилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	8.580
5-86	 4-(N-(4-метоксибензил)-N-(піридин-4-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота	
5-87	 4-(N-(4-метоксибензил)-N-(піридин-2-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота	

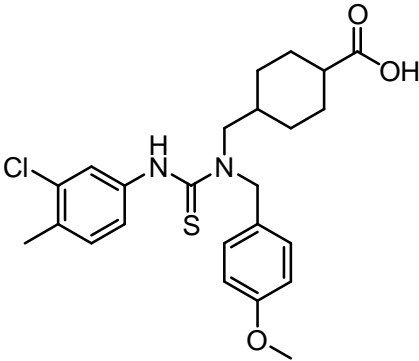
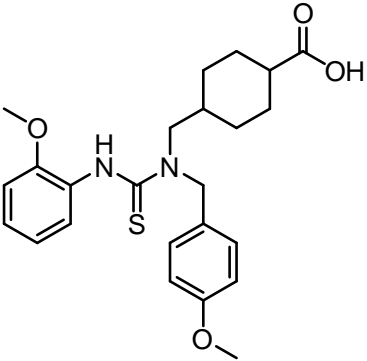
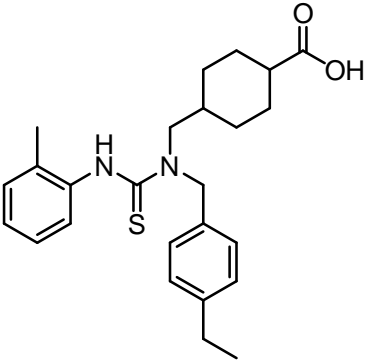
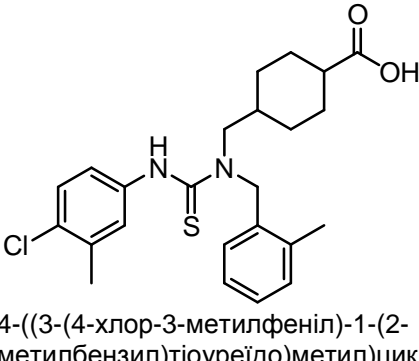
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-88	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(піридин-3-ілметил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-89	 <p>4-(N-бензил-N-(4-метокси-3-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.995
5-90	 <p>4-(N-бензил-N-((6-метоксипіридин-3-іл)метил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	3.258
5-91	 <p>4-(N-бензил-N-(4-ціанобензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.848
5-92	 <p>4-(N-бензил-N-(2-ціанобензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	4.627

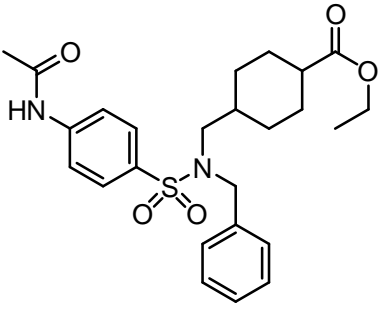
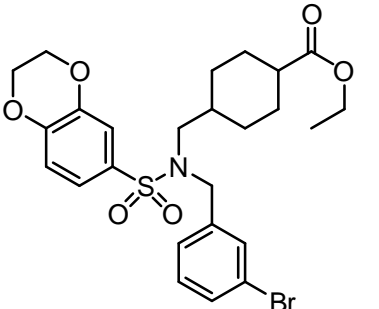
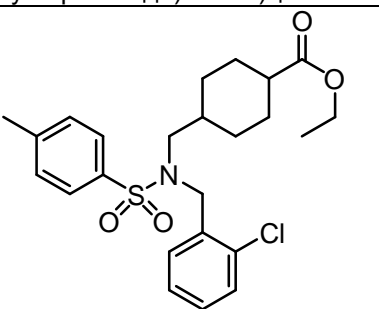
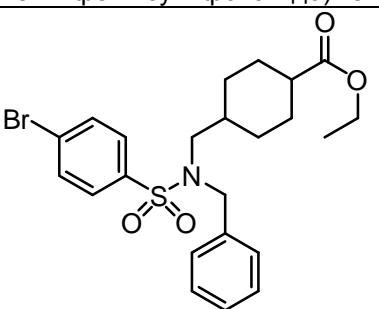
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-93	 <p>4-(N-(бензо[d][1,3]діоксол-5-ілметил)-N-бензилсульфамоіл)бензойна кислота</p>	2.167
5-94	 <p>4-(3-бензил-3-(4-метоксибензил)уреїдо)бензойна кислота</p>	
5-95	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(1-фенілетил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.397
5-96	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	2.415
5-97	 <p>4-(N-((4-метоксифеніл)(феніл)метил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	

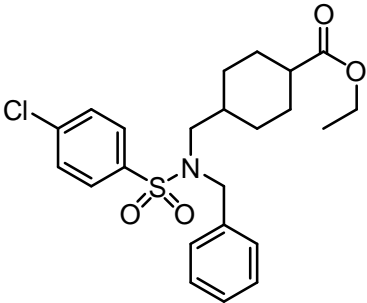
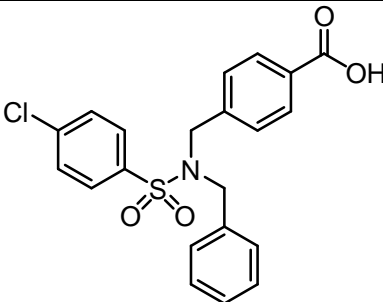
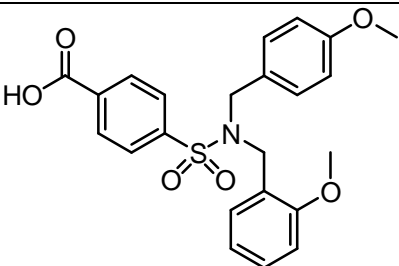
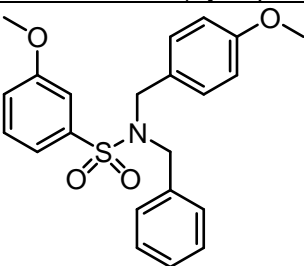
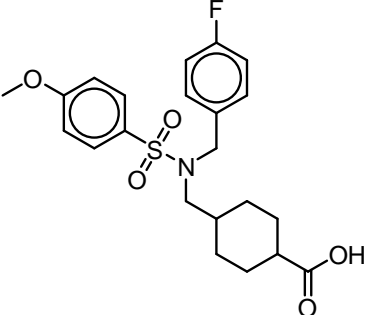
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-98	 <p>4-(4-бензил-3-(4-метоксибензил)-2,5-діоксоімідазолідин-1-іл)бензойна кислота</p>	
5-99	 <p>4-(N-бензил-N-(4-гідроксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	5.207
5-100	 <p>4-((N-(2-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота</p>	1.294
5-101	 <p>4-((N-(3-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота</p>	0.345

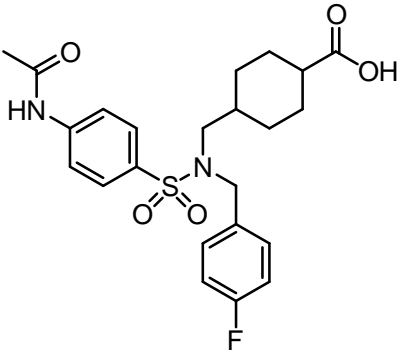
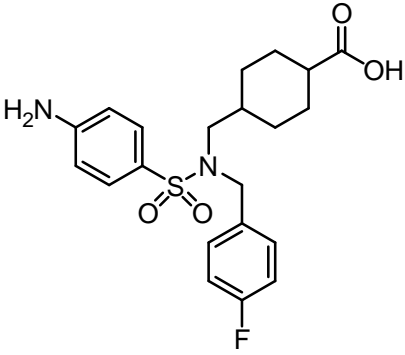
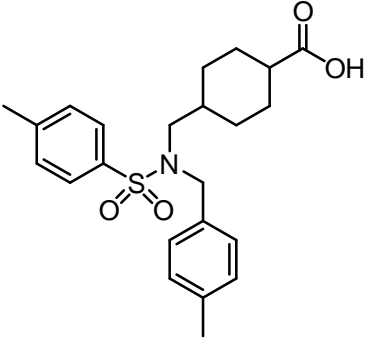
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-102	 <p>4-((N-(4-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота</p>	2.219
5-103	 <p>4-((N-(2-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота</p>	0.429
5-104	 <p>4-((N-(3-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота</p>	0.406
5-105	 <p>4-((N-(4-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)-бензойна кислота</p>	0.935

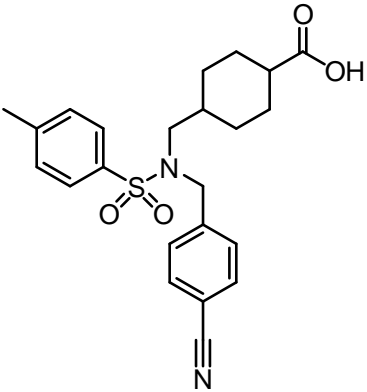
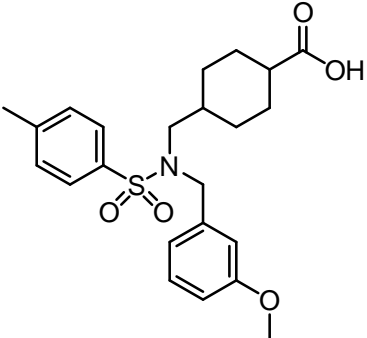
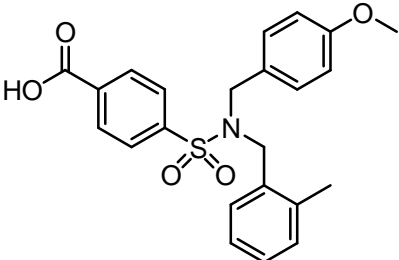
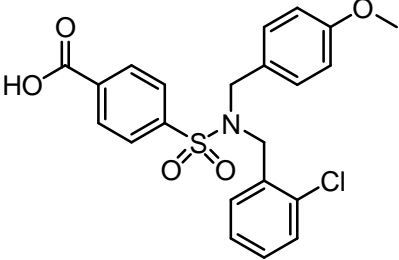
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-106	 <p>4-(2-метокси-5Н-дибензо[с, е]азепін-6(7Н)-ілсульфоніл)бензойна кислота</p>	
5-107	 <p>4-((N-(4-фторбензил)-4-гідроксифенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота</p>	4.086
5-108	 <p>4-(N-бензил-N-(4-етоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-109	 <p>4-(N-бензил-N-(4-пропоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	
5-110	 <p>4-(N-бензил-N-(4-ізопропоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	

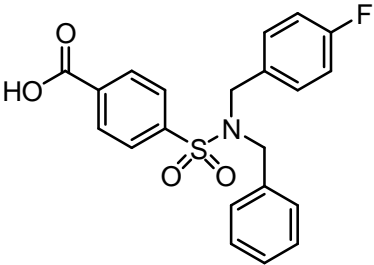
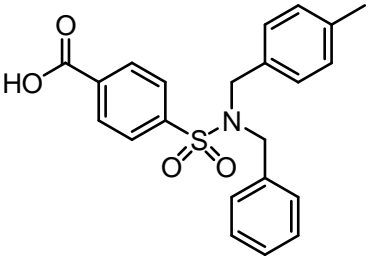
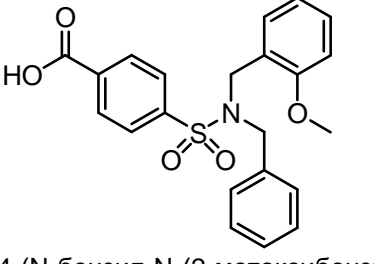
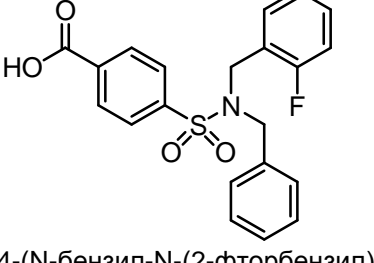
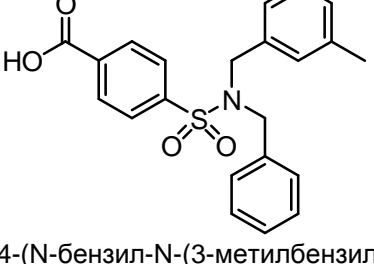
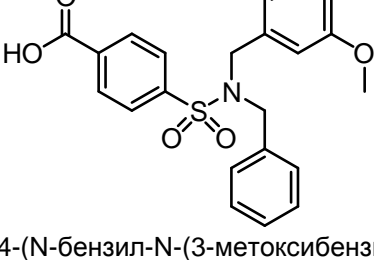
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-111	 <p>4-((3-(3-хлор-4-метилфеніл)-1-(4-метоксибензил)тіуреїдо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	6.136
5-112	 <p>4-((1-(4-метоксибензил)-3-(2-метоксифеніл)тіуреїдо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	8.852
5-113	 <p>4-((1-(4-етилбензил)-3-о-толілтіуреїдо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	5.018
5-114	 <p>4-((3-(4-хлор-3-метилфеніл)-1-(2-метилбензил)тіуреїдо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	4.872

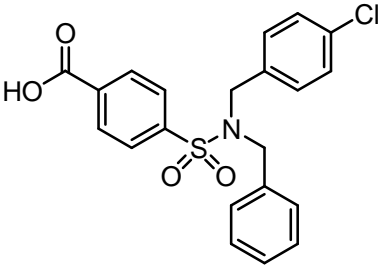
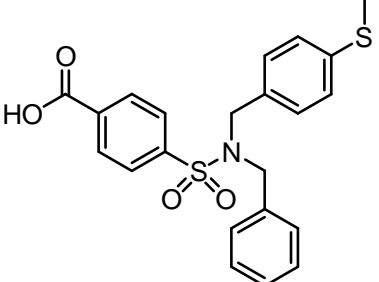
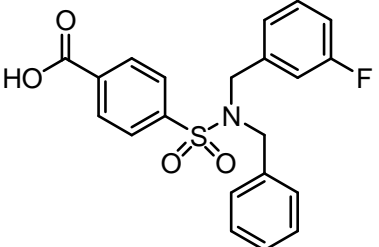
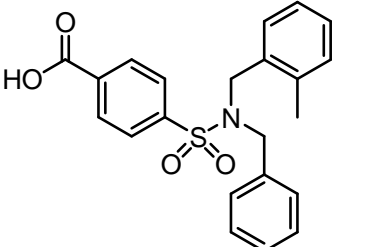
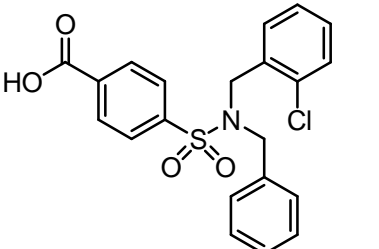
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-115	 <p>етил 4-((4-ацетамідо-N-бензилфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p>	0.334
5-116	 <p>етил 4-((N-(3-бромбензил)-2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксан-6-сульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p>	2.567
5-117	 <p>етил 4-((N-(2-хлорбензил)-4-метилфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p>	2.816
5-118	 <p>етил 4-((N-бензил-4-бромфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p>	2.344

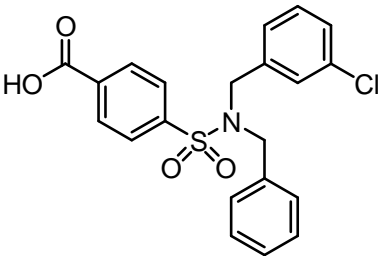
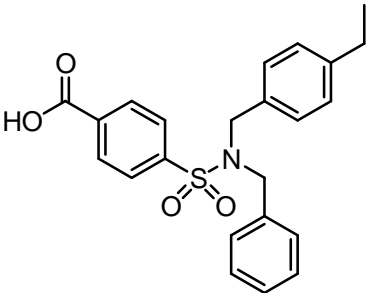
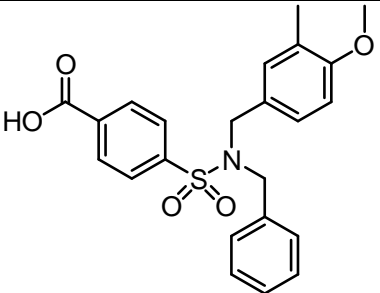
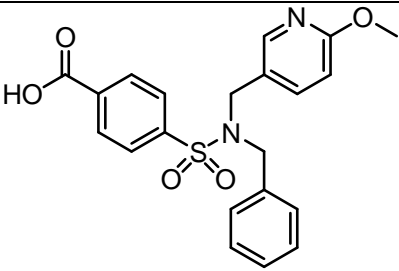
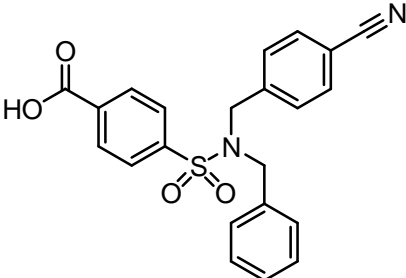
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-119	 <p>етил хлорфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p> <p>4-((N-бензил-4-хлорфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбоксилат</p>	0.672
5-120	 <p>4-((N-бензил-4-хлорфенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота</p>	0.394
5-121	 <p>4-(N-(2-метоксибензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота</p>	2.943
5-122	 <p>N-бензил-3-метокси-N-(4-метоксибензил)бензолсульфонамід</p>	2.219
5-123	 <p>4-((N-(4-фторбензил)-4-метоксифенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.092

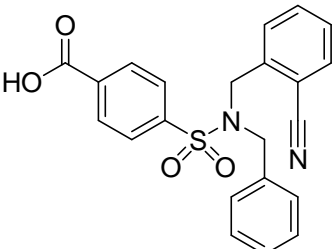
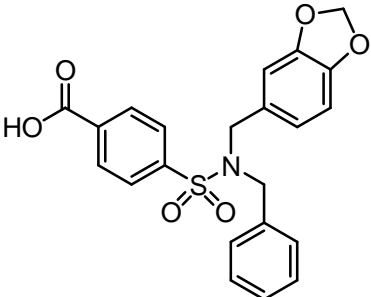
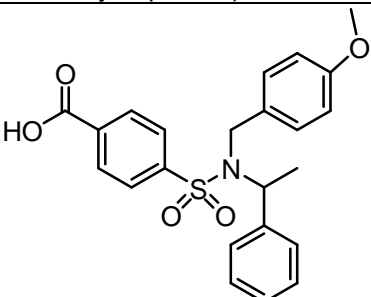
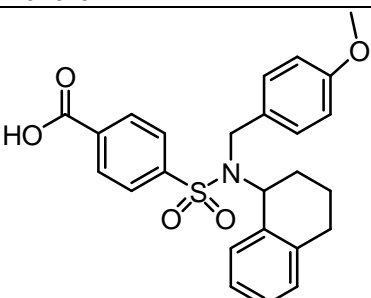
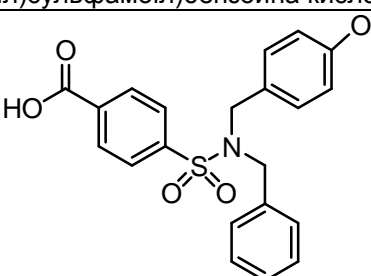
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-124	 <p>4-((4-ацетамідо-N-(4-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.842
5-125	 <p>4-((4-аміно-N-(4-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	1.651
5-126	 <p>4-((4-метил-N-(4-метилбензил)фенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.109

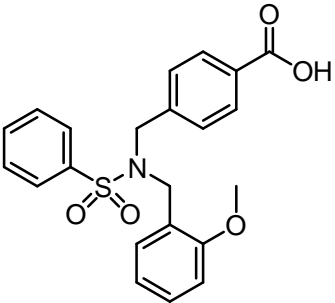
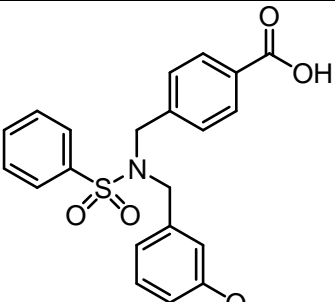
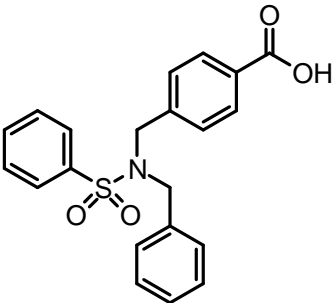
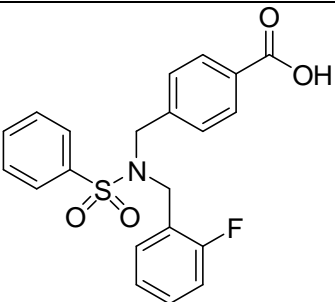
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-127	 <p>4-((N-(4-ціанобензил)-4-метилфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.499
5-128	 <p>4-((N-(3-метоксибензил)-4-метилфенілсульфонамідо)метил)циклогексанкарбонова кислота</p>	0.036
5-129	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(2-метилбензил)сульфамойл)бензойна кислота</p>	5.316
5-130	 <p>4-(N-(2-хлорбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота</p>	7.044

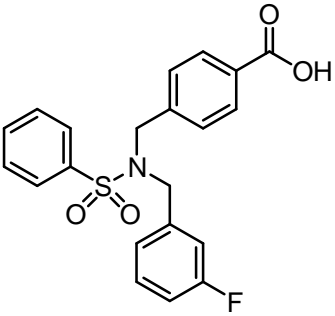
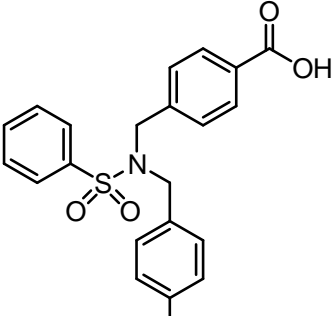
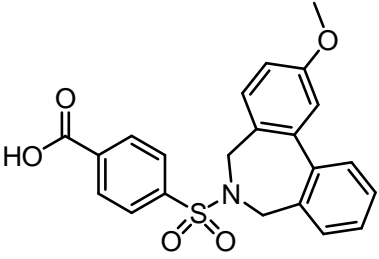
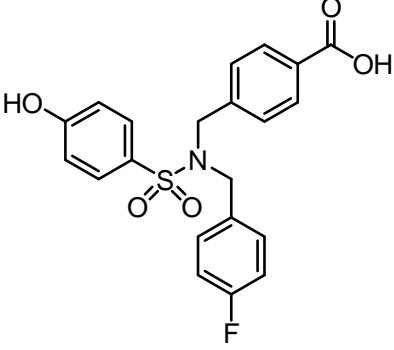
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-131	 4-(N-бензил-N-(4-фторбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	8.283
5-132	 4-(N-бензил-N-(4-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	5.394
5-133	 4-(N-бензил-N-(2-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота	5.061
5-134	 4-(N-бензил-N-(2-фторбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	6.164
5-135	 4-(N-бензил-N-(3-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.290
5-136	 4-(N-бензил-N-(3-метоксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота	5.991

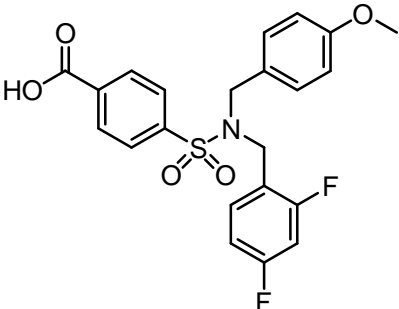
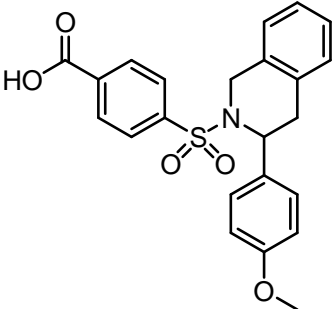
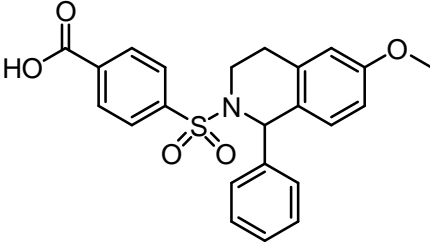
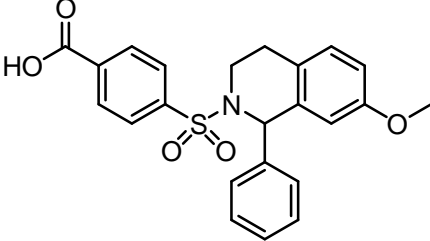
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-137	 4-(N-бензил-N-(4-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	3.977
5-138	 4-(N-бензил-N-(4-(метилтіо)бензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.458
5-139	 4-(N-бензил-N-(3-фторбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.310
5-140	 4-(N-бензил-N-(2-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	2.926
5-141	 4-(N-бензил-N-(2-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота	4.486

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-142	 <p>4-(N-бензил-N-(3-хлорбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	4.286
5-143	 <p>4-(N-бензил-N-(4-етилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	8.580
5-144	 <p>4-(N-бензил-N-(4-метокси-3-метилбензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.995
5-145	 <p>4-(N-бензил-N-((6-метоксипіридин-3-іл)метил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	3.258
5-146	 <p>4-(N-бензил-N-(4-ціанобензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.848

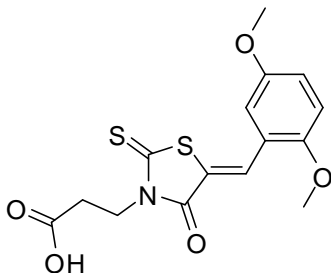
№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-147	 <p>4-(N-бензил-N-(2-ціанобензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	4.627
5-148	 <p>4-(N-(бензо[d][1,3]діоксол-5-ілметил)-N-бензилсульфамоіл)бензойна кислота</p>	2.167
5-149	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(1-фенілетил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	1.397
5-150	 <p>4-(N-(4-метоксибензил)-N-(1,2,3,4-тетрагідронафталін-1-іл)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	2.415
5-151	 <p>4-(N-бензил-N-(4-гідроксибензил)сульфамоіл)бензойна кислота</p>	5.207

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-152	 4-((N-(2-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	1.294
5-153	 4-((N-(3-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	0.345
5-154	 4-((N-(4-метоксибензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	2.219
5-155	 4-((N-(2-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	0.429

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-156	 4-((N-(3-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	0.406
5-157	 4-((N-(4-фторбензил)фенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	0.935
5-158	 4-(2-метокси-5Н-дibenzo[с, і]сульфоніл)бензойна кислота	3.571
5-159	 4-((N-(4-фторбензил)-4-гідроксифенілсульфонамідо)метил)бензойна кислота	4.086

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
5-160	 4-(N-(2,4-дифторбензил)-N-(4-метоксибензил)сульфамойл)бензойна кислота	1.255
5-161	 4-(3-(4-метоксифеніл)-3,4-дигідроізохінолін-2(1H)-ілсульфоніл)бензойна кислота	6.267
5-162	 4-(6-метокси-1-феніл-3,4-дигідроізохінолін-2(1H)-ілсульфоніл)бензойна кислота	9.616
5-163	 4-(7-метокси-1-феніл-3,4-дигідроізохінолін-2(1H)-ілсульфоніл)бензойна кислота	2.879

Приклад 6-1: (Z)-3-(5-(2,5-диметоксибензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропанова кислота

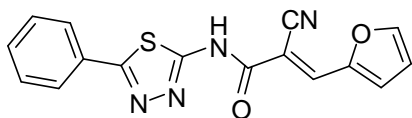


5 [0452] 3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропанову кислоту (200 мг, 1 ммоль), 2,5-диметоксибензальдегід (168 мг, 1 ммоль) і піперидин (0.3 мл) змішували в етанолі (3 мл) і

піддавали дії мікрохвильового випромінювання при 100 °C протягом 10 хвилин. Реакційну суміш охолоджували, тверду речовину збирали за допомогою фільтрування, промивали етилацетатом/гексаном (1/1) і перекристалізовували з етанолу з одержанням 85 % виходу вищезгаданої сполуки (309 мг, коричнево-жовтого гаряча тверда речовина). МС (М+Н, 284); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d6): δ, ppm: 2.57 (t, 2H), 3.74 (s, J=6.8Гц, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.19 (t, 2H), 6.90 (s, 1H), 7.10 (s, 2H), 7.86 (s, 1H).

[0453] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 2.75 мкМ.

Приклад 6-2: (E)-2-ціано-3-(фуран-2-іл)-N-(5-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)акриламід

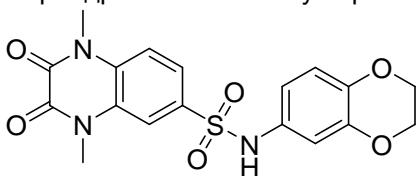


[0454] 5-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-амін (600 мг, 3.3 ммоль), ціанооцтову кислоту (300 мг, 3.6 ммоль) і EDC-HCl (861 мг, 4.5 ммоль) перемішували в ацетонітрилі (15 мл) при кімнатній температурі протягом 2 годин. Суміш розбавляли водним 1N HCl й екстрагували водну фазу етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували під вакуумом. Залишок розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) з одержанням 2-ціано-N-(5-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)ацетаміду у виді білої твердої речовини, яку застосовували без додаткового очищення.

[0455] 312 мг 2-ціано-N-(5-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)ацетаміду й 150 мкл фуран-2-карбальдегіду змішували в 2.5 мл ДМФ і нагрівали в мікрохвильовій печі при 150 °C протягом 15 хв. Додавали 5 мл H₂O і утворений осад збирали й промивали водою (4 х) з одержанням неочищеного продукту. Перекристалізація з етанолу дозволяла одержати 180 мг чистого продукту у виді коричневої твердої речовини. МС (М+Н, 323); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d6): δ, ppm: 6.82 (m, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.49 (m, 4H), 7.87 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 8.22 (br, s, 1H).

[0456] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку hT2R14 склала 0.499 мкМ.

Приклад 6-3: N-(2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-6-іл)-1,4-диметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонамід



[0457] 1,4-Диметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонілхлорид (приклад 6-3а, 450 мг, 1.6 ммоль) додавали при перемішуванні до розчину 2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-6-аміну (215 мг, 1.4 ммоль) і триетиламіну (170 мг, 1.7 ммоль) у дихлорметані (10 мл). Реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі, потім концентрували. Неочищений продукт очищали методом хроматографії на силікагелі (0-30 % етилацетат у гексані) з одержанням N-(2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-6-іл)-1,4-диметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонамід у виді білої твердої речовини. МС (М+Н, 404.10); ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d6): δ, ppm: 3.47(s, 3H), 3.49(s, 3H), 4.12(m, 4H), 6.55(m, 1H), 6.61(d, J=2.4 Гц, 1H), 6.69(d, J=8.4 Гц, 1H), 7.53(m, 1H), 7.59(d, J=2 Гц, 1H), 10.00(s, 1H).

[0458] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркового смаку склала hT2R14 7.71 мкМ.

Приклад 6-3а: 1,4-диметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонілхлорид

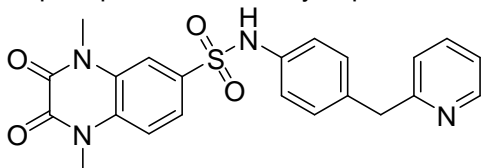
[0459] Хлорсульфонову кислоту (3 мл) нагрівали до 65 °C і додавали порціями 1,4-диметилхіноксалін-2,3(1H, 4H)-діон (приклад 6-3b, 1 г, 5.5 ммоль) протягом 0.5 години. Реакційну суміш перемішували протягом 4 годин, потім охолоджували до температури навколишнього середовища й повільно виливали на лід. Утворений осад фільтрували й промивали водою з одержанням 1,4-диметил-2,3-діоксо-1,2,3, 4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонілхлориду у виді білої твердої речовини. ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d6): δ, ppm: 3.50 (s, 6H), 7.25 (m, 2H), 7.38 (m, 4H).

Приклад 6-3b: 1,4-диметилхіноксалін-2,3(1H, 4H)-діон

[0460] До розчину NaH (2.5 г) у ДМФ (200 мл) додавали порціями хіноксалін-2,3(1H, 4H)-діон (5 г), а потім повільно додавали метилйодид (3.8 мл). Реакційну суміш перемішували при

температурі навколишнього середовища протягом 4 годин, потім додавали воду (200 мл). Утворений осад збирали за допомогою фільтрування й промивали водою з одержанням 1,4-диметилхіноксалін-2,3(1Н, 4Н)-діону у виді білої твердої речовини при 95 % виході. ¹Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 3.50(s, 6H), 7.25(m, 2H), 7.38(m, 4H).

5 Приклад 6-4: 1,4-диметил-2,3-діоксо-N-(4-(піридин-2-ілметил)феніл)-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-сульфонамід.



[0461] Сполука є комерційно доступною і була придбана через компанію Ryan Scientific.

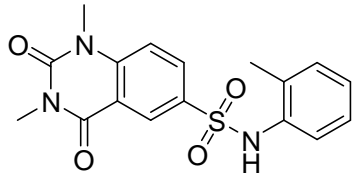
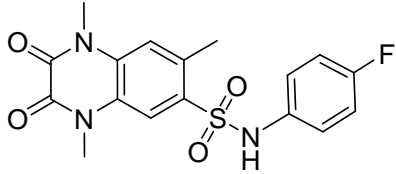
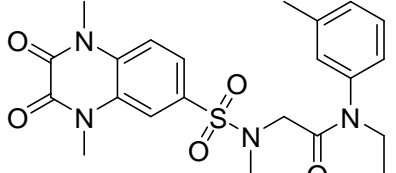
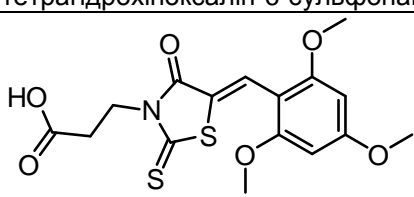
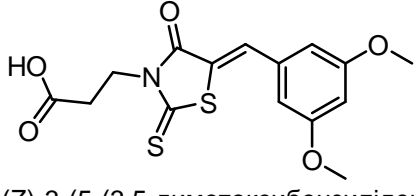
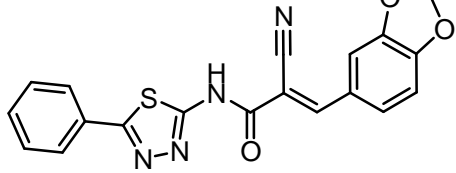
10 [0462] IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R14 склала 6.14 мкМ.

[0463] Додаткові сполуки експериментально досліджували й виявили, що вони мають порівняно високий рівень ефективності як інгібітори рецептора гіркої смаку hT2R14. Результати цього дослідження наведені нижче в таблиці D.

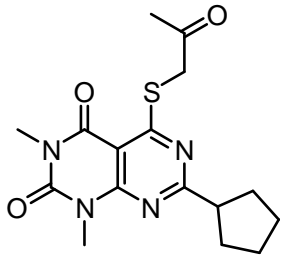
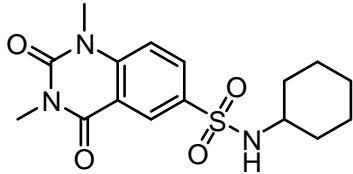
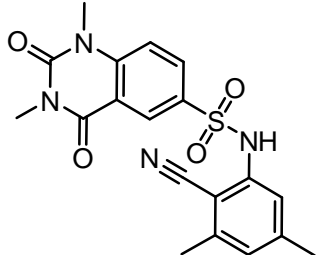
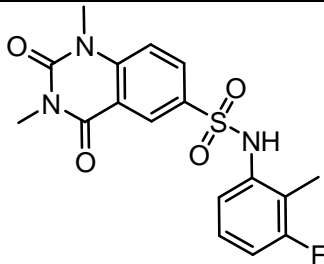
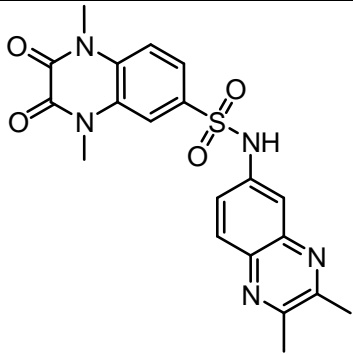
Таблиця D

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
6-5	 N-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-6-сульфонамід	0.264
6-6	 N-(2,3-дигідробензо[b][1,4]діоксин-6-іл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-6-сульфонамід	0.706
6-7	 N-(3-фтор-2-метилфеніл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-6-сульфонамід	0.935
6-8	 N-(2,6-диметилфеніл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-6-сульфонамід	

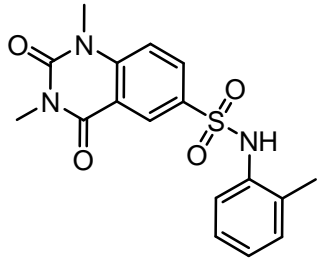
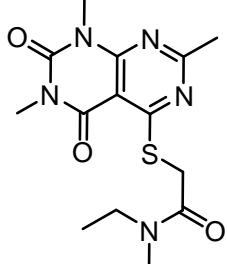
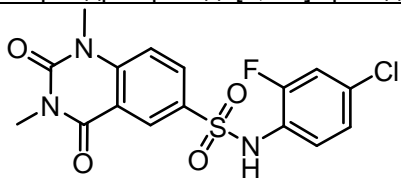
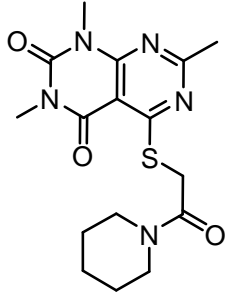
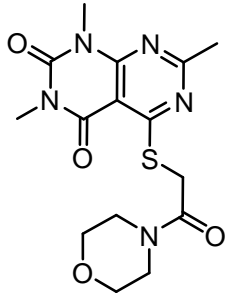
Таблиця D

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
6-9	 1,3-диметил-2,4-діоксо-N-о-толіл-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід	1.726
6-10	 N-(4-фторфеніл)-1,4,7-триметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід	12.623
6-11	 N-етил-N-м-толіл-2-(N,1,4-триметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамідо)ацетамід	14.926
6-12	 (Z)-3-(4-оксо-2-тіоксо-5-(2,4,6-триметоксибензиліден)тіазолідин-3-іл)пропанов кислот	9.371
6-13	 (Z)-3-(5-(3,5-диметоксибензиліден)-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропанов кислот	5.378
6-14	 (E)-3-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-2-ціано-N-(5-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)акриламід	2.906

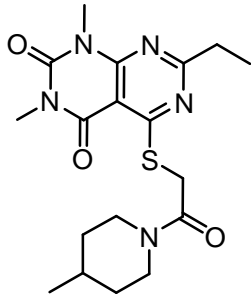
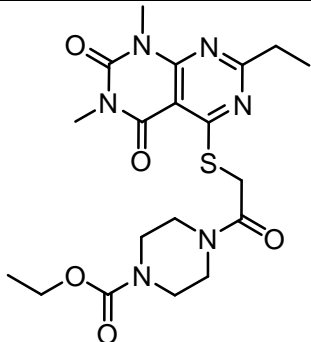
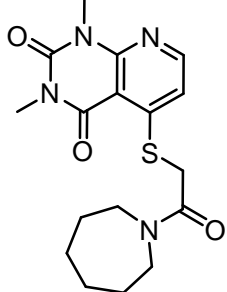
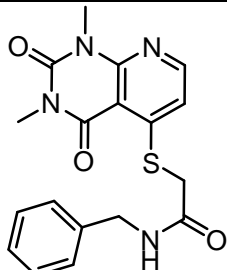
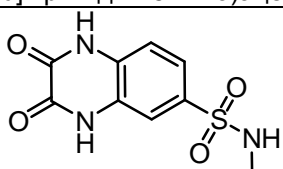
Таблиця D

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
6-15	 <p>7-циклопентил-1,3-диметил-5-(2-оксопропілтіо)піримідо[4,5-d]піримідин-2,4(1H, 3H)-діон</p>	5.428
6-16	 <p>N-циклогексил-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід</p>	7.239
6-17	 <p>N-(2-ціано-3,5-диметилфеніл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід</p>	1.946
6-18	 <p>N-(3-фтор-2-метилфеніл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід</p>	0.935
6-19	 <p>N-(2,3-диметилхіноксалін-6-іл)-1,4-диметил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіноксалін-6-сульфонамід</p>	6.332

Таблиця D

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
6-20	 1,3-диметил-2,4-діоксо-N-о-толіл-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід	1.726
6-22	 N-етил-N-метил-2-(2,6,8-триметил-5,7-діоксо-5,6,7,8-тетрагідропіримідо[4,5-d]піримідин-4-ілтіо)ацетамід	0.861
6-23	 N-(4-хлор-2-фторфеніл)-1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-6-сульфонамід	9.703
6-24	 1,3,7-триметил-5-(2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етилтіо)піримідо[4,5-d]піримідин-2,4(1H, 3H)-діон	0.292
6-25	 1,3,7-триметил-5-(2-морфоліно-2-оксоетилтіо)піримідо[4,5-d]піримідин-2,4(1H, 3H)-діон	1.006

Таблиця D

№ сполуки	Сполука	hT2R14 IC ₅₀ (мкМ)
6-26	 <p>7-етил-1,3-диметил-5-(2-(4-метилпіперидин-1-іл)-2-оксоетилтіо)піримідо[4,5-d]піримідин-2,4(1H, 3H)-діон</p>	0.721
6-27	 <p>етил 4-(2-(2-етил-6,8-диметил-5,7-діоксо-5,6,7,8-тетрагідропіримідо[4,5-d]піримідин-4-ілтіо)ацетил)піперазин-1-карбоксилат</p>	0.763
6-28	 <p>5-(2-(азепан-1-іл)-2-оксоетилтіо)-1,3-диметилпіридо[2,3-d]піримідин-2,4(1H, 3H)-діон</p>	2.377
6-29	 <p>N-бензил-2-(1,3-диметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіридо[2,3-d]піримідин-5-ілтіо)ацетамід</p>	0.710
6-30	 <p>N-метил-2,3-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрохіноксалін-6-сульфонамід</p>	6.234

Таблиця 7: Результати репрезентативного скринінгу відносно 23 рецепторів гіркої смаку [0464] Сполуки з прикладів 5 і 6, що описані вище, були піддані скринінгу відносно групи з 23 рецепторів гіркої смаку. Рецептори гіркої смаку активували до EC80 відповідним агоністом, потім обробляли вищеописаними сполуками при концентрації 25 мкМ. Дані підсумовані нижче в таблиці.

Інгібування 80 % або більше = ++++

Інгібування 60 % - 80 % = +++

Інгібування 40 % - 60 % = ++

Інгібування 20 % - 40 % = +

Example	1	3	4	5	7	8	9	10	13	14	16	44	51	54	55	61	63	64	65	67	71	75
5-51		++	+		+			+		++++	+	++			+++	++++	+++	++	+		++	+
5-25			+							+++						++	+	++				+
5-53			+		+					++							++	++				+
5-22		++	++		+			+		++++	+	++			+++	++++	+++	++			++	+
5-11		+++	+++	+	++		+	++		++++	++	+++			++++	++++	+++	++	+	+	+++	++
5-24			+		+							+			++	++++	+	+++			+	
5-37			+++	+	+					++++	+	+			++++	+	+	+++			+	
5-30	+	++	275	+	+		+	++	+	++++	+	+++		+	++++	++	++++	++++	+	+	+++	+
5-60																		+				
5-46		+			+					++++	+	++			+	++++	+++		++	++	+++	
5-59																++	+					+
5-47		+										+				+++	+				+	
5-28									+	++++	+	+	++	+	++++	++	++++	++++		++	++	+
5-1	+++			++	++		+	+++	+	++++	+++	+++	+++	+	+++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+
5-54	+							+	+	++++	++	++	+	+	++++	++++	++++	+++	+	+	+++	+
5-5	++		+	++				+	+	++++	++	++	+	+	++++	++++	++++	+++	+	+	+++	+
5-56	+																	+				
5-49	+											+			++++	+++	+	++			+	
5-20	++++			+	+		+	++	+	++++	++	+++			++++	++++	++	+++	+		++	++
5-21	+	+								++++	+	++			+	+++	+++	+			+	
5-3	++	+++					+	++		++++	+	++	+	++	++++	++	+++	++++	+		+	
5-8	+	++						++		++++	+	++	++	+	++++	+++	++	++++	++		++	+
5-4		+						++		++					++++	+	+++	++++				+
5-29																	+++	++				+
5-2	++	+	+	+	++			+++		++++	+++	+++	++	+	++++	++++	++++	+++	+	+	+++	+
5-7	+	+	+	+	+		+	+		++		++			++++	++++	++++	++++		+	++	+
5-6	+	+			+			++		++++	+	++	++	+	++++	++++	++++	++++	+		++	+
5-35	+		+	+						+	+	+		+	+++	++++	+++	+			++	
5-81	+			+				+		++++	+	++	+		+++	+++	+++	++	+	+	+	
5-55	+		+							++++					++	+	++++	++				
5-61			+												+	++	++++	+			+	
5-63	+		+												+++		+++	++		+	+	
5-62	+		+	+	+	+									+++	++	++++	++		+	+	
5-76	+		+				+									++	++			+	+	
5-77	++		+	+	+	+		+		++++	+	+	++	++	++	+++	+++	++	++	+	++	
5-78	+		+					+		++++	+	+	+	+	++	++++	+++	++	+++	+	++	+
5-80	++		+	+			+	+		++++	+	+	++	+	+++	+++	++++	+++	++	+	+++	+
5-79	++		+					+		++++	+	++	++++	+	+++	++++	++++	+++	++	+	+++	+
5-69	+		+		+			+		++++	+	++			+++	+++	++++	++			+	+
5-70	++		++	+	+			++		+++	++	+	++	++	+++	++	+++	+	++	+	++	+
5-48																++++	+++					
5-75			+											+		+	+					+
5-72	+		++				+	+		++++	+	+	+	+	++	+++	++++	+	+	+	+	++
5-71	+		+	+				+		++++	+		++	+++	++	++++	++++	+	++	+	++	+
5-73	++		+	+			++			++++	+		++++	+++	++	+++	++++	+	++	+	++	+
5-74	+		+	+			++			++++	+	+	++	++	+++	++++	++++	+	++	+	+++	+
5-1	+++		++	++			++		+	++++	++	++	+++	++	+++	++++	++++	+	+++	+	+++	+
5-1	+++		++	++	+	+	+++	+		++++	++	++	++++	+	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	+
5-65	+															++	++	+++	+		+	
5-68	+		++	+			+			++++	+	++	+	+	++++	+++	++++	+++	+	+	+++	+
5-64	+		+		+	+						+		+			+	+				
5-34	++	734	++	+			+	++		++++	+	++	+	+++	++++	++++	++++	+++	++	+	+++	
5-67	++		+				+	++		+++	+	++		++	++++	++	++++	+++	+	+	++	
5-31	+						+					+										
5-66	+				+	+						+										
5-14	+	++++		+++	+++	+	++	++++	+	++++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	++
5-23	+++		+	++			+	++++	+	++++	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++	+++	++
5-18								+++			++	+++		++	++++	+++	+++	++++	+		++	
5-19								+		++++		++		+	++++	+	+++	++++	+		+	
5-25		+++		++	++		+	+++		++++	++	+++	+	+++	++++	++++	++++	++++	++	+++	+++	
5-38	+															++++	++++	+				
5-82																++++	++++	+			+	
5-10	+++	477			++		++	++++	++	++++	++++	++	++++	++++	+++	++++	++++	+++	++++	+++	+++	+
5-12	+++	371	++	++			++	++++	+	++++	+++	+++	++++	++++	+++	++++	++++	+++	++++	+++	++++	+
5-1	+++	201	++	++			+	+++	+	++++	+++	+	++++	+++	+++	++++	++++	+++	++++	++	+	+
5-83	++		+	+				++		++++	++	+	+	++	+++	++++	+++	+	+++	++	+	++
5-84	++		+					+		++++	+	+	+++	++	+++	++++	+++	+	+++	+	+	+
5-85	++		+	+			++	+		++++	++		+	+++	+++	+++	++		+++	++	+	+
5-87																++	+	+		+		
5-88		+	345							+		+				++	+++	+		+	+	

Example	1	3	4	5	7	8	9	10	13	14	16	44	51	54	55	61	63	64	65	67	71	75
5-89		++		+	++		+	+++	+	++++	+	+++	++++	+	++++	++++	++++	+++	++++	+	+++	+
5-90		++		+	+++			++		++++	+	+++			+++	++++	++++	++++	++		+++	
5-86										+		+				+++	+++	+++				
5-58		+++		+	+++			+++		++++	+	+++	+	+++	+++	++++	++++	+++	++++	+	++++	+
5-17		+			+			+++		++++	+	+++		++	++++	++++	++++	++++	++		+++	+
5-37		+								++++		+++			++++	+++	+	+++	++		+++	
5-1		++++		+	++		+	++++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++	++	+	++++	++
5-16		++		+				+		+		+++			++++	+++	++	++++			++	+
5-92		+		+	+			+		++++	+	++++			++++	++++	++++	++++			++	
5-91		+++		+				++		++++	+	+++		+	++++	++++	++++	++++		+	+++	
5-1		+++	+	++	++		++	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++	+++	+	+++	+
5-13		++		+	+		+	+		++++	+	+++	+	+++	++++	++++	++++	+++	+		++	
5-15		+		+	+		+	++		+++	+	+++			++++	++++	+++	+++			++	
5-19		+		+				+		++++	+	++		+	++++	++++	++	+++			++	
5-16		+++	+		+		+	+		+	+	+++			++++	++++	++++	+++	+		++	
5-1		+++	++	+	++		++	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	++
5-17		+	+					+		+++				++	++++	++++	++	++			+	+
5-1		++		++	++			++	+	++++	+++	+++	++++	++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	++
5-30		++	396	+	+			++	+	++++	++	+++	++	+++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+++	
5-96		+	+						+	++++	+	+++			++++	++++	++++	++++	+++	++	+++	
5-95		++		+	+			+		++++	++	+++	+		++++	++++	++++	+++	+++	+	++	+
5-97										+	+++	+				+	+++	+				
5-50		++	565	+	+			+	+	++++	++	+++	+		++++	++++	++++	+++	++	++	+++	
5-98		+	++									+++			++++	++++	+++	+++				
5-1		+++		+	++		+	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	+
5-48		++	410	+				+++		++++	+	+++		++	++++	++++	++++	+++	++	+	+++	
5-57		+						+							+++	+++	+++	+++				
5-1		+++		+	+		+	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	+++	+++	+	++++	+
5-94		+										++				+	+++	+++			+	
5-107										+++		+			+	++++	+++	+++			+	
5-45		++								++++	+	++			++	++++	++++	+++	+		+++	
5-44		+								++++		++			+	++++	++++	++			++	
5-43		+	+							++++	+	+			+	++++	++++	+++			++	
5-42		+								++++	+	++				++++	++	++			++	+
5-40		+	+	+				++		++++	+	+++	+	+	++++	++++	++++	+++			++	
5-41		++	332	+				++	+	++++	+	+++	+		++	++++	++++	++++	+++		++	
5-1	+	++		++	++		+	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	+++	+++	+++	++	+++	+
5-33		++	++	++	+		+	+++	+	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	+++	+++	+++	++	+++	
5-23		+++	++	++	++		++	++++	+	++++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	+++	+++	++++	++	++++	
5-27		++		++	+			+++	+	++++	+	+++	++	++	++++	++++	+++	+++	++	++	+++	+
5-26			++		+							+				+	+++	+++			+	
5-93		+	++	+	+			++		++++	++	+++	++	+++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+++	
5-99			310		+					++++	+	+++			+	++++	++++	+++	+++	++	+++	
5-105		+	+	+	+			+		++++	++	+++		+	++++	++++	++	++++	+++	+++	+++	+
5-104		++	++	++	++		+	++		++++	+	+++	+	+	+++	++++	++	++++	+++	+++	+++	++
5-1		++	++	++	++		+	+++		++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	
5-103		++	++	+	+			+		++++	+	+++	+	++	++++	++++	++	++++	++	+	++++	+
5-102		++	++	+	++			+		++++	+	+++	+	+	++++	++++	+	+++	++	+	+++	+
5-101		+++	++	++	+++		+	+++		++++	++	+++	+++	++	+++	++++	++	++++	+++	++	+++	++
5-100		+	++	+	+		+	+		++	+	+++		+	++++	+++	+	++++	++	+++	+++	+
5-1		++	+	+	++		+	+++		++++	++	+++	+++	++	+++	++++	++++	++++	+++	++	+++	+
5-93		+++	+++	+	++			+++	+	++++	++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	+++	++	+++	
5-36		++			+			+		++++	+	++		+	++++	++++	+++	++++	++		+++	
5-106										++++	+	++		+	++++	+++	+++	+++		+	+	
5-108		++	+++	+	+			++		++++	+	+++	++	+	++++	+++	+++	++++	++	+	+++	
5-109		++	++					++	+	++++	+	++	++	+	++++	+++	++	++++	+++	+	+++	
5-110		++	+++	+	++	+	+	++	+	++++	+	+++	+++	+	++++	++++	+++	+++	+++	+	+++	
6-2				331						++++							++	+	+			
6-9					++					++++		+				+	+					
6-3									+	++++		+					+				+	
6-8										+												
6-7					+					++							+					
6-11				+	+				++	+						+					+	
6-10		+		+	+				++	++		+				+		+				
6-4					+		+	++++	++++			+				+	+					
6-5				717						+++		++				+	+++	278	++		+++	+
6-1		+	3866		932			++++		++++	+	++			+	++	+	+++	+		+	+
6-6			895							++++				+	210		447					

Приклад 7. Дані стосовно сприйняття для прикладу 10-10.

- 5 [0465] Для визначення ефективності індивідуального антагоніста проводили дослідження стосовно смаку із застосуванням конкретного агоніста T2R8, досліджуваної сполуки і контрольного блокатора гірког смаку. Авторами даного винаходу раніше був запропонований ефективний антагоніст hT2R8, який, як було показано, має ефект впливу на смак, приклад 4-8 з попередньої заявки на патент США, серійний № 60/957129, поданої 21 серпня 2007 року: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід. Як було
- 10 показано, ця речовина зменшує гіркий смак кави, як окремо, так і в комбінації з блокатором гірког смаку широкого спектра дії. Як показано в таблиці 6, при порівнянні з контрольним антагоністом згідно із даним винаходом (приклад 10-8) антагоніст hT2R8 з прикладу 10-10 демонструє більшу здатність блокувати сприйняття гірког смаку.

Номер прикладу	Аналіз HTS	Обрані як більш гіркі		Значення р	Конц. антагоніста	
	IC ₅₀	10-8	+ інший		мкМ	
10-10	0.02-0.04	14	2	0.004	1	

15

Таблиця 6. Результати дослідження стосовно смаку, де порівнювали контрольний блокатор

смаку й більш ефективний блокатор смаку 10-10.

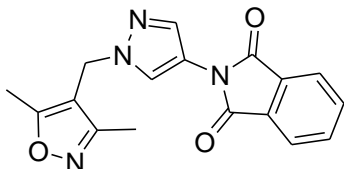
[0466] Як було показано в ході досліджень стосовно смаку відповідно до цього прикладу, відчуття гіркоти можна зменшити або усунути шляхом введення антагоністів hT2R8, при цьому антагоніст з прикладу 10-10, очевидно, є більш сильнодіючим аналогом у порівнянні з відомими антагоністами гіркої смаку, такими як N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід (7767). З цього випливає, що відчуття гіркоти можна зменшити або усунути шляхом введення антагоністів hT2R8 у композиції, такі як їжа, напої та/або медичні препарати, гіркий смак яких обумовлений агоністами T2R8.

Приклад 8. Ідентифікація антагоністів hT2R8

[0467] Для ідентифікації антагоністів клітинні лінії, що стабільно експресують hT2R8, разом з невпорядкованим химерним білком G16g44 були одержані як описано в попередніх заявках на патент. Високопродуктивний аналіз проводили із застосуванням стабільних клітинних ліній і FLIPR (флуориметричний планшетний аналізатор (Fluorescent Imaging Plate Reader)). Агоніст hT2R8 застосовували для активації рецепторів до 70-80 % від їх відповідної максимальної активності. У випадку hT2R8 застосовуваним агоністом був андрографолід (200 мкМ). Щоб ідентифікувати антагоністи, разом з агоністом додавали сполуки іншої хімічної структури. Сполуки, що викликають статистично значиме зниження рецепторної активності, поєднували разом і повторно ідентифікували за допомогою залежних від дози кривих інгібування. Остов А і остов В були ідентифіковані як антагоністи hT2R8 (фіг. 1). Конкретні приклади представлені в таблиці 1.

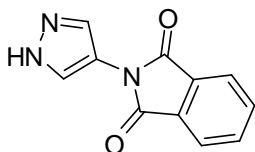
Приклад 9. Антагоністи hT2R8

Приклад 9-1: 2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ізоіндолін-1,3-діон.



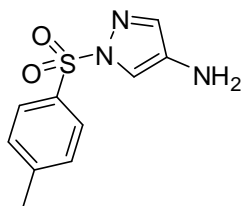
[0468] 2-(1H-піразол-4-іл)ізоіндолін-1,3-діон (приклад 9-1a) (1.5 г, 7 ммоль), 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазол (1.5 г, 10 ммоль) і карбонат цезію (3.3 г, 10 ммоль) перемішували в ДМФ (20 мл) при 80 °C протягом 3 годин. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли H₂O (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і перекристалізовували з абсолютного етанолу (30 мл) при кип'ятінні зі зворотним холодильником з одержанням 2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)ізоіндолін-1,3-діону (900 мг, 38 %) у виді прозорої, ясно-жовтої твердої речовини. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) 1.36 (d, 3H, (δ J2.16 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), (=7.2 Гц), 5.22 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.91-7.83 (m, 4H), 8.21 (s, 1H). МС М+Н розрах. 323.11; експер. 323.1. Температура плавлення: 170-171 °C. Як було показано, вищезгадана сполука інгібує рецептор гіркої смаку hT2R8 і має IC₅₀ 0.18 мкМ.

Приклад 9-1a: 1-тозіл-1H-піразол-4-амін.



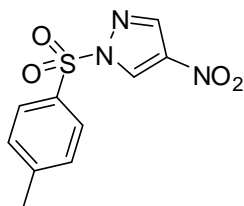
[0469] 1-Тозіл-1H-піразол-4-амін (приклад 9-1b) (3 г, 12.7 ммоль) та ізобензофуран-1,3-діон (1.9 г, 13 ммоль) перемішували в ДМФ/ацетонітрилі (1/1) (20 мл) при 100 °C протягом 1 години. Суміш охолоджували й розбавляли H₂O. Осад збирали за допомогою фільтрування, промивали додатковою кількістю води, а потім етилацетатом і гексаном. Твердий продукт висушували в глибокому вакуумі з одержанням 2-(1H-піразол-4-іл)ізоіндолін-1,3-діону (2.5 г, 92 %) у виді жовтої твердої речовини. МС М+Н розрах. 214.1; експер. 214.1. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) (δ 7.93-8.10 (m, 6H), 13.03 (bs, 1H).

Приклад 9-1b: 1-тозіл-1H-піразол-4-амін.



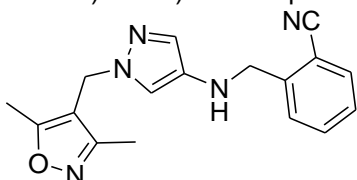
[0470] 4-Нітро-1-тозіл-1Н-піразол (приклад 9-1с) (3 г, 11.2 ммоль) і 10 % паладій на вуглеці (800 мг) в MeOH (150 мл) перемішували при 2 атмосферах водню в гідрогенізаторі Парра протягом 3 годин. Суміш фільтрували через целіт, концентрували й очищали методом хроматографії на силікагелі (80 % етилацетат у гексані) з одержанням 1-тозіл-1Н-піразол-4-аміну (1.9 г, 71 %) у виді рожевої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) (δ (2.40 (s, 3H), 3.01 (bs, 2H), 7.29 (d, 2H, J=8 Гц), 7.41 (d, 1H, J=1.2 Гц), 7.53 (d, 1H, J=1.2 Гц), 7.81 (d, 2H, J=8 Гц).

Приклад 9-1с: 4-нітро-1-тозіл-1Н-піразол



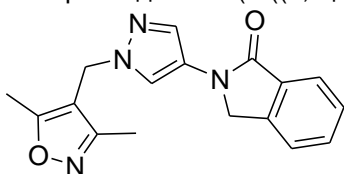
[0471] 4-Нітро-1Н-піразол (500 мг, 4.4 ммоль), 4-метилбензол-1-сульфонілхлорид (840 мг, 4.4 ммоль) і триетиламін (510 мг, 5 ммоль) перемішували в ДМФ (25 мл) при 80 °С протягом 1 години. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли H₂O (200 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл). Органічну фазу промивали водним 1N HCl (200 мл) і H₂O (200 мл), сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Тверду речовину розтирали в порошок з гексаном з одержанням 4-нітро-1-тозіл-1Н-піразолу (600 мг, 50 %) у виді брудно-білої твердої речовини. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) (δ (2.40 (s, 3H), 7.52 (d, 2H, J=8.4 Гц), 7.98 (d, 2H, J=8.8 Гц), 8.57 (s, 1H), 9.58 (s, 1H).

Приклад 9-2: 2-((1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іламіно)метил)бензонітрил



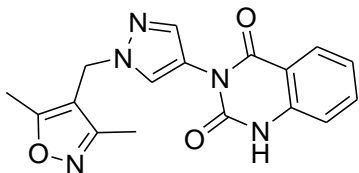
[00472] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-амін-гідрохлорид (100 мг, 0.44 ммоль), 2-(бромметил)бензонітрил (115 мг, 0.6 ммоль) і триетиламін (0.5 мл, 3.5 ммоль) у ДМФ (3 мл) піддавали дії випромінювання й перемішували в мікрохвильовому реакторі при 80 °С протягом 10 хвилин. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли H₂O (50 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 30 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Залишок розчиняли в етанолі (70 мл), H₂O (3 мл) і оцтовій кислоті (1 мл), і суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 2 годин. Розчин концентрували на роторному випарнику, переносили в метанол (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ, одержуючи 3-1 мл аліквоти (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 16 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й концентрували на роторному випарнику. Залишок розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) з одержанням 2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іламіно)метил)бензонітрилу (85 мг, 61 %) у виді чистої білої твердої речовини. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): (δ 2.18 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 4.97 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.58-7.68 (m, 3H), 7.77 (s, 1H), 8.10 (d, J=8 Гц, 1H), 8.27 (s, 1H), 9.19 (bs, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має величину IC₅₀ більше 30 мкМ.

Приклад 9-3: 2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іламіно)метил)бензонітрил



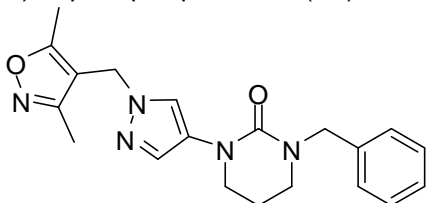
[0473] 2-((1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іламіно)метил)бензонітрил (приклад 9-2) (30 мг, 0.14 ммоль) перемішували в суміші MeOH/2N водний NaOH (5 мл) при 100 °C протягом 30 хвилин у мікрохвильовому реакторі. Реакційну суміш підкисляли 1N водним HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 70 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували. Залишок розчиняли в MeOH (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ, одержуючи 2-1.5 мл аліквоти (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 16 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й концентрували з одержанням 2-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)ізоіндолін-1-ону (21 мг, 50 %) у виді чистої білої твердої речовини. 1Н ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): (δ 2.15 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.81 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.48-7.50 (m, 1H), 7.51-7.52 (m, 2H), 7.72 (d, J=7.2 Гц, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.20 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 11 мкМ.

Приклад 9-4: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)хіназолін-2,4(1Н, 3Н)-діон



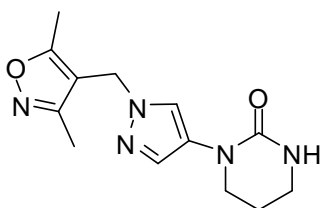
[0474] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлорид (75 мг, 0.33 ммоль), метил-2-ізоціанатобензоат і триетиламін (200 мг, 2 ммоль) в ацетонітрилі (3 мл) піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі при 100 °C протягом 30 хвилин. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли H₂O (75 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом хроматографії на силікагелі (75 % етилацетат у гексані) з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)хіназолін-2,4(1Н, 3Н)-діону (20 мг, 18 %) у виді світло-рожевої твердої речовини. 1Н ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): (δ 2.16 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 7.17-7.22 (m, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.66 (dt, J=8, 1.2 Гц, 1H), 7.92 (d, J=6.8 Гц, 1H), 7.95 (s, 1H), 11.52 (bs, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.5 мкМ.

Приклад 9-5: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1Н)-он



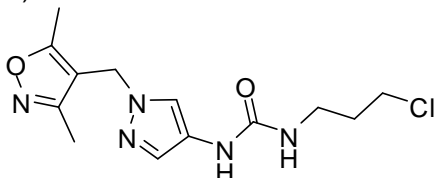
[0475] 1-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1Н)-он (приклад 9-5а) (50 мг, 0.18 ммоль) і 60 % гідрид натрію (8 мг, 0.20 ммоль) у ДМФ (3 мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, потім охолоджували до 0 °C. До суміші додавали бензилбромід (31 мг, 0.18 ммоль) і залишали нагріватися при кімнатній температурі, потім перемішували протягом 2 годин. Реакцію гасили метанолом і концентрували. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували дихлорметаном (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок переносили в дихлорметан (5 мл) і очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1Н)-ону (20 мг, 30 %) у виді білої твердої речовини. 1Н ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): (δ 1.85-1.91 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.12 (m, 2H), 3.55 (t, J=5.8 Гц, 2H), 4.48 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 7.22-7.31 (m, 5H), 7.49 (s, 1H), 7.84 (s, 1H). РХ/МС; [M+H]⁺ розраховано для C₂₀H₂₃N₅O₂; очікуване значення 366.19; експер. 366.15. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.65 мкМ.

Приклад 9-5а: 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1Н)-он



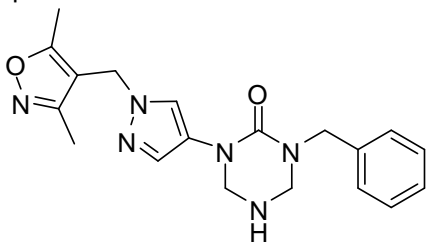
[0476] 1-(3-Хлорпропіл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)1Н-піразол-4-іл)сечовину (приклад 9-5b) (200 мг, 0.64 ммоль) і 60 % гідрид натрію (28 мг, 0.71 ммоль) у ДМФ (2 мл) перемішували при 0 °С протягом 15 хвилин, потім залишали нагріватися до кімнатної температури й перемішували протягом 2 годин. Реакцію гасили метанолом і концентрували. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували дихлорметаном (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували. Залишок переносили в дихлорметан (5 мл) і очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1Н)-ону (84 мг, 48 %) у виді білої твердої речовини. 1Н ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ1. 85-1.91 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.12 (m, 2H), 3.48 (t, J=6.0 Гц, 2H), 5.05 (s, 2H), 6.57 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.80 (s, 1H). РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₃H₁₇N₅O₂; очікуване значення 276.14; експер. 276.10.

Приклад 9-5b: 1-(3-хлорпропіл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)сечовина



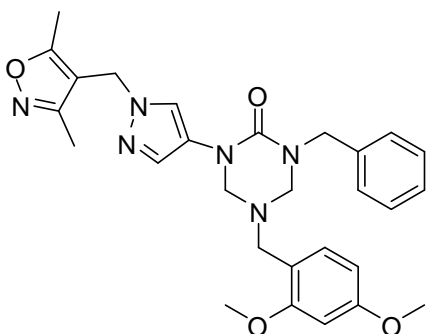
[0477] 1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-амін (342 мг, 1.78 ммоль) і 2-хлорпропілізоціанат (213 мг, 1.78 ммоль) в ацетонітрилі (5 мл) нагрівали при 65 °С протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, концентрували й залишок розчиняли в дихлорметані (5 мл) і очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й концентрували, потім розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і одержували 1-(3-хлорпропіл)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)1Н-піразол-4-іл)сечовину (218 мг, 39 %) у виді білої твердої речовини. РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₂H₁₆Cl₅O₂; очікуване значення 298.10; експер. 298.10.

Приклад 9-6: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-он



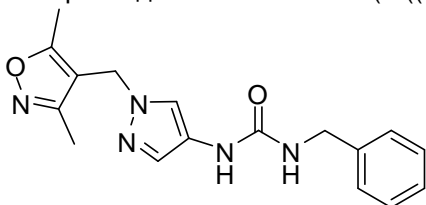
[0478] 1-Бензил-5-(2,4-диметоксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-он (приклад 9-6а) (44 мг, 0.09 ммоль), анізол (9 мг, 0.09 ммоль) і 50 % розчин трифтороцтова кислота/дихлорметан (1 мл) у дихлорметані (1 мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували, гасили насиченим бікарбонатом натрію (50 мл), екстрагували етилацетатом (2х, 50 мл) і промивали сольовим розчином (50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували. Очищення за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт) дозволяло одержати 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-он (19 мг, 62 %) у виді білої твердої речовини. РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₉H₂₂N₆O₂; очікуване значення 367.18; експер. 367.20. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 5.84 мкМ.

Приклад 9-6а: 1-бензил-5-(2,4-диметоксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-он



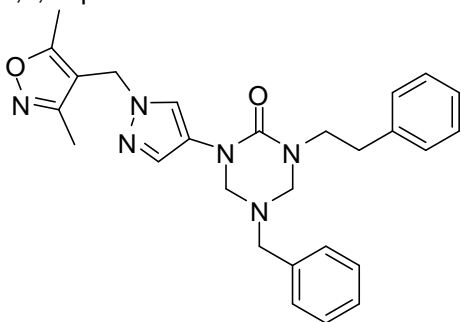
[0479] 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)сечовину (приклад 9-6b) (50 мг, 0.15 ммоль), 2,4-метоксибензиламін (26 мг, 0.15 ммоль) і формальдегід (37 % мас. у воді) (25 мг, 0.31 ммоль) нагрівали при 100 °С протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували дихлорметаном (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-5-(2,4-диметоксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-ону (44 мг, 56 %) у виді олії. РХ/МС; [М+Н] розраховано для C₂₈H₃₂N₆O₄; очікуване значення 517.25; експер. 517.20.

Приклад 9-6b: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)сечовина



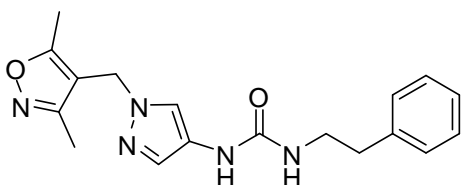
[0480] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-амін (287 мг, 1.49 ммоль) і бензилізоціанат (199 мг, 1.49 ммоль) в ацетонітрилі (5 мл) нагрівали при 65 °С протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й концентрували. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметан у метанолі: 30 хвилинний градієнт) і розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) з одержанням 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)сечовини (246 мг, 51 %) у виді білої твердої речовини. РХ/МС; [М+Н] розраховано для C₁₇H₁₉N₅O₂; очікуване значення 326.15; експер. 326.10.

Приклад 9-7: 5-бензил-1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3-фенетил-1,3,5-триазинан-2-он



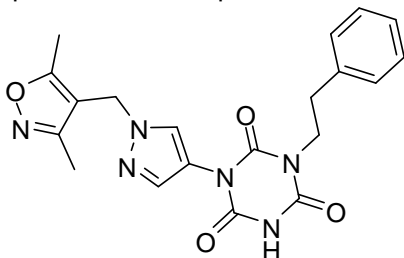
[0481] Одержували як у прикладі 9-6а з 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3-фенетилсечовини (приклад 9-7а), формальдегіду й бензиламіну. Вихід: 15 %. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.11 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.69 (t, J=7.6 Гц, 2H), 3.39 (t, J=7.8 Гц, 2H), 3.81 (s, 2H), 4.16 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 7.17-7.32 (m, 10H), 7.42 (s, 1H), 7.78 (s, 1H). РХ/МС; [М+Н] розраховано для C₂₇H₃₀N₆O₂; очікуване значення 471.24; експер. 471.15. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує гіркий рецептор hT2R08 і має IC₅₀ 2.64 мкМ.

Приклад 9-7а: 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-3-фенетилсечовина



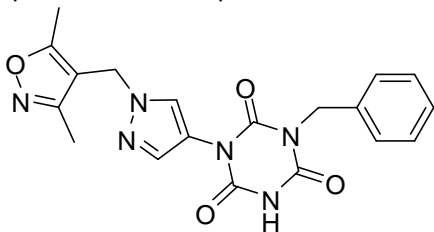
[0482] Одержували як у прикладі 9-6b з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну й феноїлізоціанату. Вихід: 29 %. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.10 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.69 (t, J=7.2 Гц, 2H), 3.25 (q, J=7.4 Гц, 2H), 5.02 (s, 2H), 6.00 (t, J=5.8 Гц, 1H), 7.16-7.30 (m, 6H), 7.68 (s, 1H), 8.13 (s, 1H). РХ/МС; [M+H]⁺ розраховано для C₁₈H₂₁N₅O₂; очікуване значення 340.17; експер. 340.20.

Приклад 9-8: 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенетил-1,3,5-триазинан-2,4,6-трион



[0483] 1-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенетилсечовину (приклад 9-7a) (100 мг, 0.29 ммоль) у ТГФ (2 мл) охолоджували до 0 °С і повільно додавали н-хлоркарбонілізоціанат (93 мг, 0.88 ммоль). Після додавання реакційну суміш залишали нагріватися до кімнатної температури й перемішували протягом 1 години. Реакційну суміш концентрували й залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану в метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенетил-1,3,5-триазинан-2,4,6-триону (100 мг, 83 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.13 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.82 (t, J=5.8 Гц, 2H), 3.88 (t, J=8.0 Гц, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.19-7.31 (m, 5H), 7.44 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 11.84 (s, 1H). РХ/МС; [M+H]⁺ розраховано для C₂₀H₂₀N₆O₄; очікуване значення 409.15; експер. 409.20. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 3.03 мкМ.

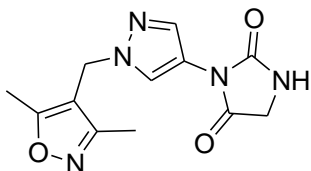
Приклад 9-9: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2,4,6-трион



[0484] 1-Бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)сечовину (приклад 95b) (100 мг, 0.31 ммоль) у ТГФ (2 мл) охолоджували до 0 °С і повільно додавали н-хлоркарбонілізоціанат (97 мг, 0.92 ммоль). Після додавання реакційну суміш залишали нагріватися до кімнатної температури й перемішували протягом 1 години. Реакційну суміш концентрували і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану в метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2,4,6-триону (112 мг, 93 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.12 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 4.87 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 7.23-7.34 (m, 5H), 7.45 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 11.93 (s, 1H). РХ/МС; [M+H]⁺ розраховано для C₁₉H₁₈N₆O₄; очікуване значення 395.14; експер. 395.15. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.14 мкМ.

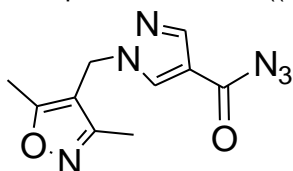
Приклад 10. Антагоністи hT2R8: Одержання сполук відповідно винаходу

Приклад 10-1: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



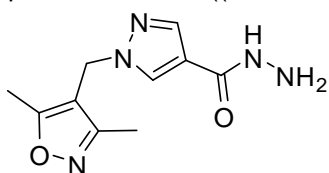
[0485] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазид (приклад 10-1а) (6 г, 25.5 ммоль) у толуолі (100 мл) кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 1 години й охолоджували до температури навколишнього середовища в атмосфері азоту. Додавали гідрохлорид метилового ефіру гліцину (3.1 г, 26 ммоль) і триетиламін (3.2 г, 32 ммоль), суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували й видаляли розчинник на роторному випарнику. Тверду речовину повторно розчиняли в етилацетаті (100 мл) і органічну фазу промивали 1N розчином HCl (2х, 150 мл). Водну фазу знову екстрагували етилацетатом (2х, 75 мл), і об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували. Тверду речовину, що утворилася, розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і висушували в глибокому вакуумі з одержанням 3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (5.2 г, 74 %) у виді білої твердої речовини. 1Н ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц): δ 2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 4.09 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 5.68 (bs, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.05 (1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.7 мкМ.

Приклад 10-1а: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазид



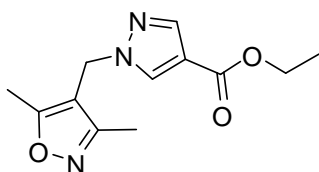
[0486] Нітрит натрію (450 мг, 6.5 ммоль, в H₂O) (10 мл) додавали по краплях протягом 10 хвилин до суспензії 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбогідрозиду (приклад 10-1b) (1 г, 4.3 ммоль) в 10 % водній оцтовій кислоті (50 мл) і охолоджували до 0 °C за допомогою бані із крижаною водою. Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 15 хвилин, потім екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали водним насиченим карбонатом натрію (100 мл), а потім H₂O (100 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і висушували у вакуумі з одержанням 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (1 г, 93 %) у виді білої твердої речовини. 1Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ) 2.20 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 5.07 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.93 (s, 1H).

Приклад 10-1b: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбогідрозид



[0487] Етил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбоксилат (приклад 10-1c) (6 г, 24 ммоль) і гідазин (7.5 г, 240 ммоль) перемішували в EtOH (100 мл) при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 12 годин. Розчин концентрували на роторному випарнику і твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і висушували в глибокому вакуумі з одержанням 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбогідрозиду (5.5 г, 97 %) у виді чистої білої твердої речовини. 1Н ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц): (δ) 2.11 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 5.15 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 9.31 (bs, 1H).

Приклад 10-1c: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбоксилат

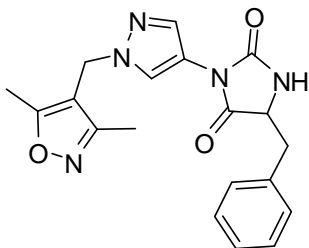


[0488] Етил-1Н-піразол-4-карбоксилат (4.2 г, 30 ммоль), 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазол (5.1 г, 35 ммоль) і карбонат цезію (9.8 г, 30 ммоль), у ДМФ (50 мл), перемішували при 80 °C

протягом 12 годин. Реакційну суміш охолоджували до температури навколишнього середовища, розбавляли 0.1 N HCl (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію й концентрували на роторному випарнику. Твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і збирали за допомогою

5 фільтрування з одержанням етил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбоксилату (6 г, 80 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ)1.34 (t, J=7.2 Гц, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 4.29 (q, J=7.2 Гц, 2H), 5.06 (s, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.91 (s, 1H).

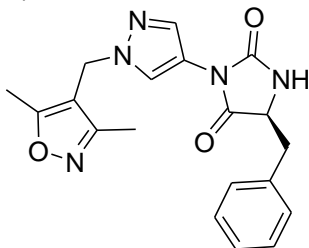
Приклад 10-2: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



10 [0489] Одержували як у прикладі 10-1 з гідрохлориду метилового ефіру (+/-)-фенілаланіну й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду. Вихід: 58 %. ¹H ЯМР (ацетон-d₆, 400 МГц): (δ)2.17 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 3.07 (dd, J=14.4, 6.4 Гц, 1H), 3.20 (dd, J=14, 4.4 Гц, 1H), 4.53 (t, J=4.8 Гц, 1H), 5.18 (s, 2H), 7.27-7.19 (m, 5H), 7.46 (bs, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.99 (s, 1H). МС M+H розрах. 366.15; експер. 366.1. Температура плавлення: 169-171 °С. Як було

15 показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.18 мкМ.

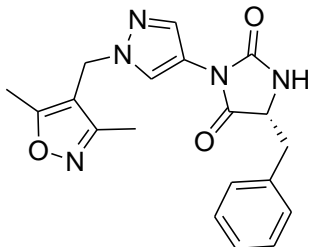
Приклад 10-3: (S)-5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



[0490] Одержували як у прикладі 10-1 з гідрохлориду метилового ефіру (S)-фенілаланіну й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду (приклад 6а). Вихід: 13 % виділено за допомогою хіральної хроматографії. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ)2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.88 (dd, J=13.6, 9.2 Гц, 1H), 3.35 (dd, J=13.6, 3.6 Гц, 1H), 4.31-4.35 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 5.53 (bs, 1H), 7.21-7.36 (m, 5H), 7.85 (s, 1H), 8.01 (s, 1H). РХ/МС; [M+H] розраховано для C₁₉H₁₉N₅O₃; очікуване значення 366.15; експер. 366.1. [α]_D= (-)-136, c=0.1, етанол. Як було

25 показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.12 мкМ.

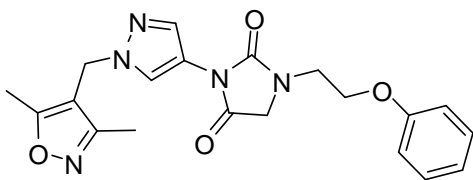
Приклад 10-4: (R)-5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



[0491] Одержували як у прикладі 10-1 з гідрохлориду метилового ефіру (R)-фенілаланіну й 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду. Вихід: 9 % виділено за допомогою хіральної хроматографії ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ)2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.88 (dd, J=13.6, 9.2 Гц, 1H), 3.35 (dd, J=13.6, 3.6 Гц, 1H), 4.31-4.35 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 5.53 (bs, 1H), 7.21-7.36 (m, 5H), 7.85 (s, 1H), 8.01 (s, 1H). МС M+H розрах. 366.15; експер. 366.1. [α]_D= (+)-124, c=0.2, етанол. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і

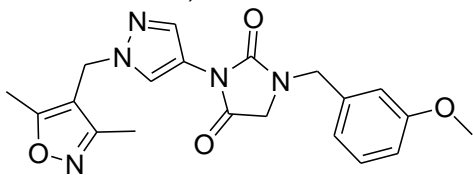
35 має IC₅₀ 0.11 мкМ.

Приклад 10-5: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-феноксиетил)імідазолідин-2,4-діон



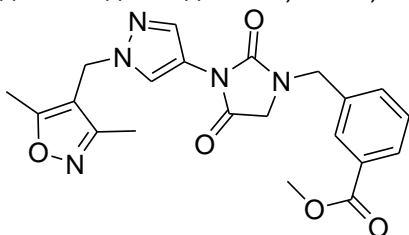
[0492] 3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (200 мг, 0.7 ммоль), (2-брометокси)бензол (200 мг, 1 ммоль) і карбонат цезію (325 мг, 1 ммоль) піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі при 85 °C протягом 20 хвилин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водним 1N HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Залишок переносили в метанол (10 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 25 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували, концентрували, потім повторно розчиняли в абсолютному етанолі й концентрували на роторному випарнику (4х) з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-феноксиетил)імідазолідин-2,4-діону (150 мг, 54 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 3.86 (t, J=5.2 Гц, 2H), 4.19 (t, J=4.4 Гц, 2H), 4.25 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 6.88 (dd, J=9.2, 1.2 Гц, 2H), 7.00 (dt, J=7.6, 1.2 Гц, 1H), 7.27-7.32 (m, 2H), 7.89 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). МС М+Н розрах. 396.17; експер. 396.1. Температура плавлення: 117-118 °C. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.06 мкМ.

Приклад 10-6: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон



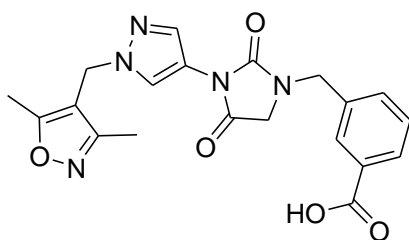
[0493] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 6) і 3-метокси-бензилброміду. Вихід: 55 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 6.81-6.88 (m, 3H), 7.26-7.31 (m, 1H), 7.92 (s, 1H), 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.07 мкМ.

Приклад 10-7: Метил 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензоат



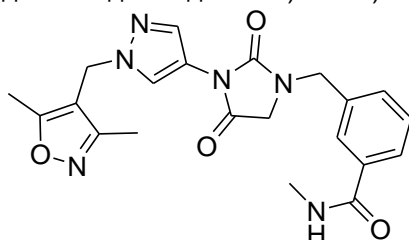
[0494] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й 3-метокси-бензилброміду. Вихід: 83 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ2.20 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 3.86 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 4.67 (s, 2H), 5.07 (s, 2H), 7.45-7.52 (m, 2H), 7.93 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.03 (dd, J=7.2, 1.6 Гц, 1H), 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.09 мкМ.

Приклад 10-8: 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензойна кислота



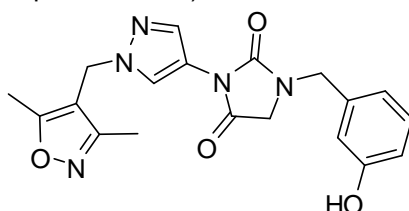
[0495] 3-((3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (500 мг, 1.8 ммоль) (приклад 10-5), метил-3-(бромметил)бензоат (456 мг, 2 ммоль) і карбонат цезію (650 мг, 2 ммоль) перемішували в ДМФ (4 мл) у мікрохвильовому реакторі при 85 °С протягом 20 хвилин. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли 1N водним HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Неочищений ефір розчиняли в метанолі (5 мл) і додавали водний NaOH (50 мл, 10 % по мас.) і суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин. Реакційну суміш підкисляли 1N HCl (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Вільну кислоту розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і висушували у вакуумі з одержанням 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензойної кислоти (610.мг, 83 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 2.13 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 4.00 (s, 2H), 4.59 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), (МГц): δ 7. 46-7.59 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.85-7.88 (m, 2H), 8.18 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.8 мкМ.

Приклад 10-9: 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)-N-метилбензамід



[0496] 3-((3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензойну кислоту (100 мг, 0.24 ммоль) (приклад 10-8), метиламіну гідрохлорид (67 мг, 1 ммоль), триетиламін (155 мг, 1.5 ммоль) і EDC (57 мг, 0.3 ммоль) в ацетонітрилі (3 мл) піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі при 80 °С протягом 10 хвилин. Реакційну суміш охолоджували, розбавляли водним 1N HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Неочищений продукт розчиняли в MeOH (3 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 25 хвилинний градієнт) з одержанням 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)-N-метилбензаміду (25 мг, 25 %) у виді білої твердої речовини. МС М+Н розрах. 423.17; експер. 423.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.14 мкМ.

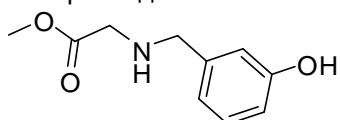
Приклад 10-10: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон:



[0497] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1а) і метил-2-(3-гідроксибензиламіно)ацетату (приклад 10-10а). Вихід: 24 %. ¹H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2.15 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 3.99 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 5.21 (s, 2H), 6.70 (m, 3H), 7.15 (m, H), 7.80 (s, 1H), 8.19 (s, H), 9.44 (s, H). РХ/МС; [М+Н] очікуване значення 382.1; експер. 382.1. Температура плавлення: 35-136 °С. Як було показано,

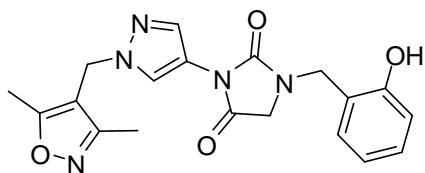
вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.035 мкМ.

Приклад 10-10a: метил-2-(3-гідроксибензиламіно)ацетат:



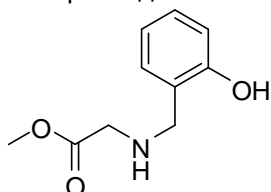
[0498] Метилловий ефір гліцину (500 мг, 4 ммоль) і 3-гідроксибензальдегід (480 мг, 4 ммоль) розчиняли в 5 мл суміші ТГФ/метанол (1:1). У реакційну суміш повільно додавали оцтову кислоту (240 мг, 4 ммоль) і 1М ціанборгідрид натрію в ТГФ (4.8 мл, 4.8 ммоль). Реакційну суміш піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі при 85 °С протягом 15 хвилин, охолоджували до кімнатної температури й видаляли солі за допомогою фільтрування. Прозорий розчин концентрували, і залишок очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил в H_2O : 25 хвилинний градієнт) з одержанням вищезгаданої сполуки у виді прозорого гелю. Вихід 45 %. МС М+Н розрах. 196.1; експер. 196.1.

Приклад 10-11: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон:



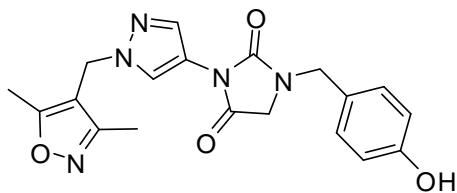
[0499] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1a) і метил-2-(2-гідроксибензиламіно)ацетату (приклад 10-11a). Вихід: 28 %. 1H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2.12 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 4.00 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 6.83 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 9.66 (s, 1H). РХ/МС; [М+Н] очікуване значення 382.1; експер. 382.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.07 мкМ.

Приклад 10-11a: метил-2-(2-гідроксибензиламіно)ацетат:



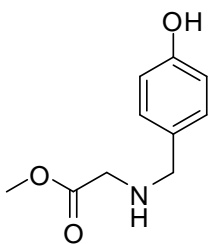
[0500] Одержували як у прикладі 10-10a з метилового ефіру гліцину й 2-гідроксибензальдегіду. Вихід 40 %. МС М+Н розрах. 196.1; експер. 196.1

Приклад 10-12: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(4-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон:



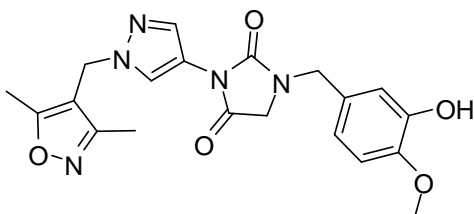
[0501] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду й метил-2-(4-гідроксибензиламіно)ацетату (приклад 10-12a). Вихід 9 %. 1H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2. 117 (s, 3H), 2.383 (s, 3H), 3.918 (s, 2H), 4.387 (s, 2H), 5.174 (s, 2H), 6.719 (J=8.8, d, 2H), 7.108 (J=8.8, m, 2H), 7.761 (s, 1H), 8.154 (s, 1H), 9.399 (s, 1H). РХ/МС; [М+Н] очікуване значення 382.1; експер. 382.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.06 мкМ.

Приклад 10-12a: метил-2-(4-гідроксибензиламіно)ацетат:



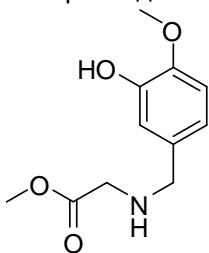
[0502] Одержували як у прикладі 10-10а з метилового ефіру гліцину й 4-гідроксibenзальдегіду. Вихід 40 %. МС М+Н розрах. 196.1; експер. 196.1

Приклад 10-13: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-гідрокси-4-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон:



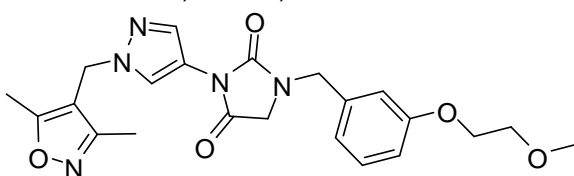
[0503] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1а) і метил-2-(3-гідрокси-4-метоксибензиламіно)ацетату (приклад 10-13а). Вихід 22 %. ¹Н ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2. 119 (s, 3H), 2.383 (s, 3H), 3.716 (s, 3H), 3.923 (s, 2H), 4.361 (s, 2H), 5.117 (s, 2H), 6.667 (m, 2H), 6.863 (J=8.4, d, 1H), 7.766 (s, 1H), 8.159 (s, 1H). МС М+Н розрах. 412.1; експер. 412.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.1 мкМ.

Приклад 10-13а: метил-2-(3-гідрокси-4-метоксибензиламіно)ацетат:



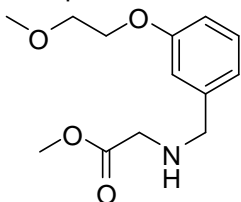
[0504] Одержували як у прикладі 10-10а з метилового ефіру гліцину й 3-гідрокси-4-метоксибензальдегіду. Вихід 47 %. МС М+Н розрах. 226.1; експер. 226.1

Приклад 10-14: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-(2-метоксиетокси)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



[0505] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1а) і метил-2-(3-(2-метоксиетокси)бензиламіно)ацетату (приклад 10-14а). Вихід 27 %. ¹Н ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2.12 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 3.62 (t, J=4.4, 2H), 3.98 (s, 2H), 4.06 (t, J=4.4, 2H), 4.48 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 6.86 (m, 3H), 7.24 (t, J=8, 1H), 7.78 (s, 1H), 8.17 (s, 1H). МС М+Н розрах. 440.2; експер. 440.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.07 мкМ.

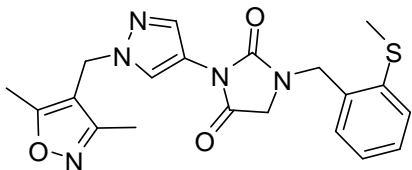
Приклад 10-14а: метил-2-(3-(2-метоксиетокси)бензиламіно)ацетат:



[0506] Одержували як у прикладі 10-10а з метилового ефіру гліцину й 3-(2-

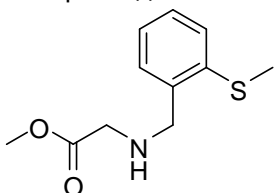
метоксиетокси)бензальдегід. Вихід 55 %. МС М+Н розрах. 254.1; експер. 254.1

Приклад 10-15: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-(метилтіо)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



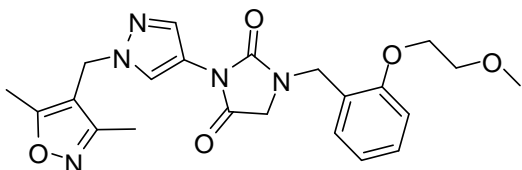
- 5 [0507] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1а) і метил-2-(2-(метилтіо)бензиламіно)ацетату (приклад 10-15а). Вихід 67 %. ¹H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2.12 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 3.98 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.30 (m, 3H), 7.79 (s, 1H), 8.18 (s, 1H). РХ/МС; [М+Н] очікуване значення 412.1; експер. 412.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.03 мкМ.

Приклад 10-15а: метил-2-(2-(метилтіо)бензиламіно)ацетат:



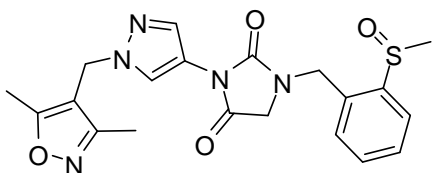
[0508] Одержували як у прикладі 10-10а з метилового ефіру гліцину й 2-(метилтіо)бензальдегіду. Вихід 50 %. МС М+Н розрах. 226.1; експер. 226.1

- 15 Приклад 10-16: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-(2-метоксиетокси)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



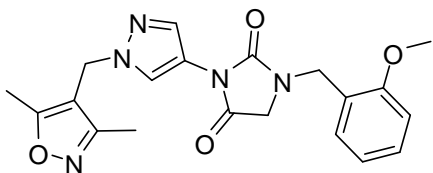
- 20 [0509] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-11) і 2-бромметилметилового ефіру. Вихід 19 %. ¹H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ2.11 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 3.64 (t, J=3.6, 2H), 4.00 (s, 2H), 4.11 (t, J=3.2, 2H), 4.27 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 6.90 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 7.26 (m, 2H), 7.76 (s, 1H), 8.15 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.1 мкМ.

- 25 Приклад 10-17: 33-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-(метилсульфініл)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



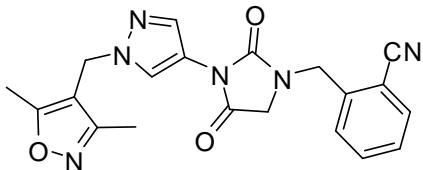
- 30 [0510] В 20 мл посуді для застосування в мікрохвильовій системі розчиняли 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-(метилтіо)бензил)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-15) (70 мг, 0.17 ммоль) і м-ХПБК (м-хлорпербензойну кислоту) (58 мг, 0.34 ммоль) у дихлорметані при 0 °С. Реакційну суміш перемішували при 0 °С і залишали нагріватися до кімнатної температури протягом 4 годин. Розчинник реакції видаляли під вакуумом, і неочищений продукт розчиняли в 1 мл етанолу й очищали методом ВЕРХ Varian (10-95 % ацетонітрил/вода; 25 хвилин). Очищені фракції випаровували під вакуумом з одержанням вищезгаданої сполуки. МС М+Н розрах. 428.1; експер. 428.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.4 мкМ. Вихід: 12мг, 17 %.

Приклад 10-18: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон:



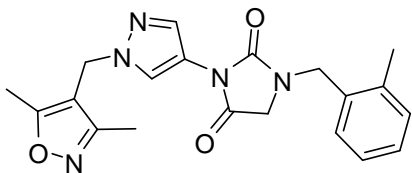
5 [0511] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-2-метоксибензолу (199 мг, 1 ммоль). Вихід: 33 %. МС М+Н розрах. 396.1; експер. 396.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.06 мкМ.

Приклад 10-19: 2-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітрил:



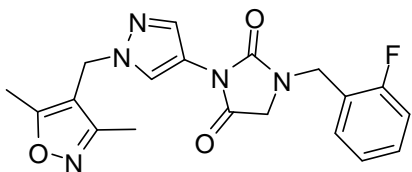
10 [0512] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 2-(бромметил)бензонітрилу. Вихід: 27 %. МС М+Н розрах. 391.1; експер. 391.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.5 мкМ.

Приклад 10-20: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон:



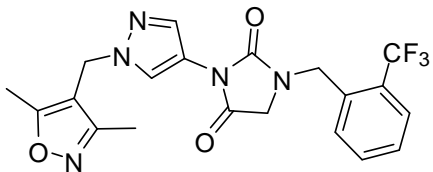
15 [0513] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-2-метилбензолу. Вихід: 21 %. МС М+Н розрах. 380.1; експер. 380.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.1 мкМ.

20 Приклад 10-21: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон:



25 [0514] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-2-фторбензолу. Вихід 42 %. МС М+Н розрах. 384.1; експер. 384.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.08 мкМ.

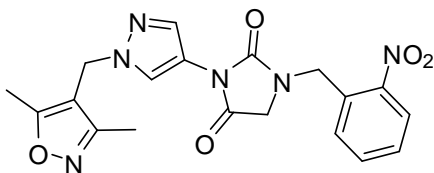
Приклад 10-22: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(трифторметил)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



30 [0515] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-

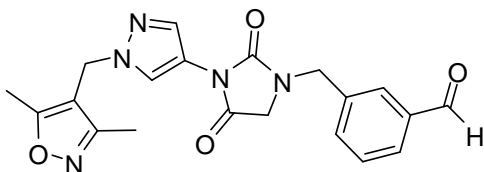
4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-2-(трифторметил)бензолу. Вихід: 37 %. МС М+Н розрах. 434.1; експер. 434.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.2 мкМ.

5 Приклад 10-23: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-нітробензил)імідазолідин-2,4-діон:



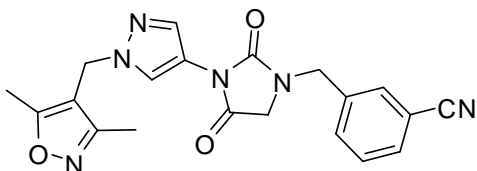
10 [0516] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-2-нітробензолу. Вихід 22 %. МС М+Н розрах. 411.1; експер. 411.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.07 мкМ.

Приклад 10-24: 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензальдегід:



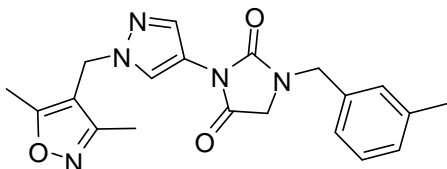
15 [0517] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-(бромметил)бензальдегід. Вихід: 35 %. 1H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ : 123 (s, 3H), 2.388 (s, 3H), 4.035 (s, 2H), 4.631 (s, 2H), 5.186 (s, 2H), 7.581 (m, 1H), 7.643 (m, 1H), 7.787 (m, 3H), 8.178 (s, H), 9.997 (s, H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.2 мкМ.

20 Приклад 10-25: 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітріл:



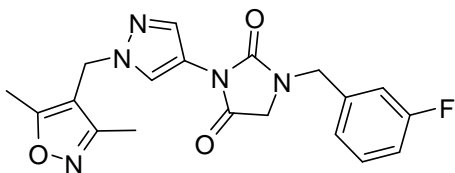
25 [0518] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-(бромметил)бензонітрилу. Вихід 21 %. МС М+Н розрах. 411.1; експер. 411.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 1 мкМ.

Приклад 10-26: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон:



30 [0519] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-3-метилбензолу. Вихід 25 %. МС М+Н розрах. 380.1; експер. 380.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.02 мкМ.

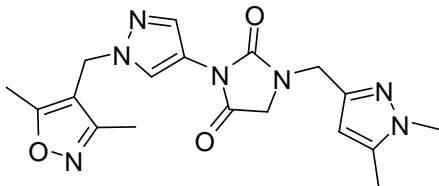
Приклад 10-27: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон:



[0520] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-3-фторбензолу. Вихід 27 %. МС М+Н розрах. 384.1; експер. 384.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.06 мкМ.

5

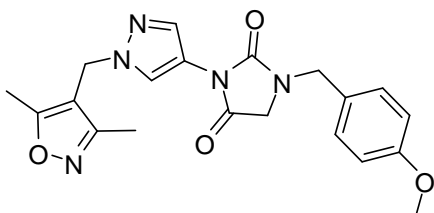
Приклад 10-28: 1-((1,5-диметил-1H-піразол-3-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон:



[0521] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-(бромметил)-1,5-диметил-1H-піразолу. Вихід: 22 %. МС М+Н розрах. 384.1; експер. 384.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.3 мкМ

10

Приклад 10-29: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон:

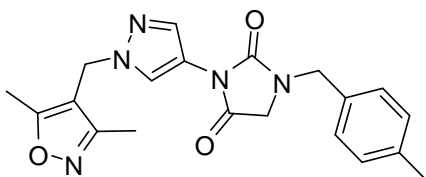


15

[0522] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-4-метоксибензолу. Вихід 19 %. МС М+Н розрах. 396.1; експер. 396.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.07 мкМ.

20

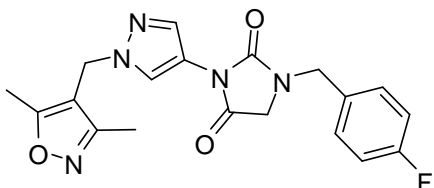
Приклад 10-30: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон:



[0523] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-4-метилбензолу. Вихід 25 %. МС М+Н розрах. 380.1; експер. 380.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.06 мкМ.

25

Приклад 10-31: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон:

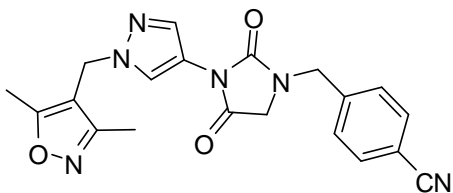


30

[0524] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-

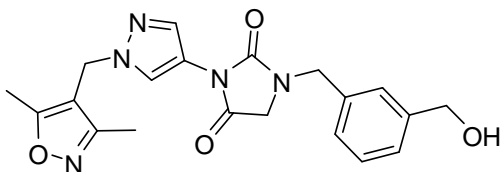
4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(бромметил)-4-фторбензолу. Вихід 33 %. МС М+Н розрах. 384.1; експер. 384.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.05 мкМ.

5 Приклад 10-32: 4-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітрил:



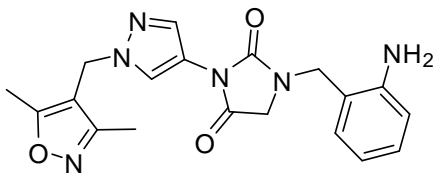
10 [0525] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 4-(бромметил)бензонітрилу. Вихід 21 %. МС М+Н розрах. 391.1; експер. 391.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.05 мкМ.

Приклад 10-33: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-(гідроксиметил)бензил)імідазолідин-2,4-діон:



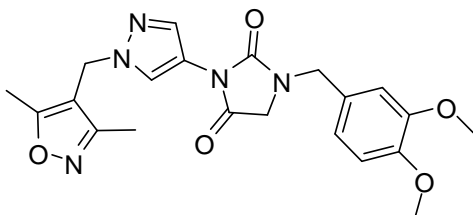
15 [0526] 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензальдегід (приклад 10-24) (131 мг, 0.3 ммоль) розчиняли в 2 мл етанолу. Розчин пропускали через апарат H-Cube при кімнатній температурі, застосовуючи 10 % Pd/C каталізатор при швидкості потоку 1 мл/хвилину. Зібрану фракцію концентрували, повторно розчиняли в 2 мл етанолу й очищали методом ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил/вода, 25 хвилин). Очищені фракції поєднували й концентрували з одержанням вищезгаданої сполуки. 1H ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ. 123 (s, 3H), 2.388 (s, 3H), 3.978 (s, 2H), 4.516 (s, 2H), 5.182 (s, 2H), 7.242 (m, 4H), 7.779 (s, 1H), 8.172 (s, 1H), 8.505 (s, 1H). МС М+Н розрах. 396.1; експер. 396.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.3 мкМ. Вихід: 24 мг, 18 %.

25 Приклад 10-34: 1-(2-амінобензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон:



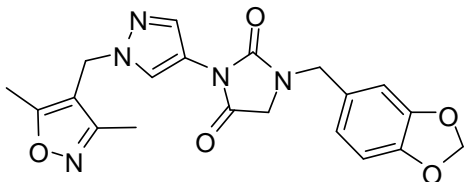
30 [0527] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-нітробензил)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-23) (126 мг, 0.3 ммоль) розчиняли в 2 мл етанолу. Розчин пропускали через апарат H-Cube при кімнатній температурі, застосовуючи 10 % Pd/C каталізатор при швидкості потоку 1 мл/хвилину. Зібрану фракцію концентрували, повторно розчиняли в 2 мл етанолу й очищали методом ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил/вода, 25 хвилин). Очищені фракції поєднували й концентрували з одержанням вищезгаданої сполуки. Вихід 26 %. МС М+Н розрах. 381.1; експер. 381.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.02 мкМ.

35 Приклад 10-35: 1-(3,4-диметоксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон:



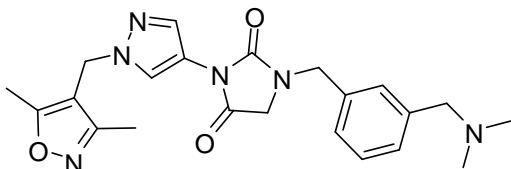
[0528] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (275 мг, 1 ммоль), (3,4-диметоксифеніл)метанол (201 мг, 1.2 ммоль), N, N,N, N-тетраметилазодикарбоксамід (344 мг, 2 ммоль) розчиняли в 2 мл безводного ТГФ. Додавали трибутилфосфін (404 мг, 2 ммоль) і поміщали реакційну суміш у мікрохвильовий реактор на 5 хвилин при 90 °С. Реакційну суміш фільтрували, концентрували й очищали методом ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил/вода, 25 хвилин) з одержанням вищезгаданої сполуки. Вихід: 25мг, 6 %. ¹Н ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ. 119 (s, 3H), 2.385 (s, 3H), 3.724 (J=6.4 d, 6H), 3.946 (s, 2H), 4.435 (s, 2H), 5.178 (s, 2H), 6.885 (m, 3H), 7.776 (s, 1H), 8.166 (s, 1H). МС М+Н розрах. 426.1; експер. 426.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.06 мкМ.

Приклад 10-36: 1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-ілметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон:



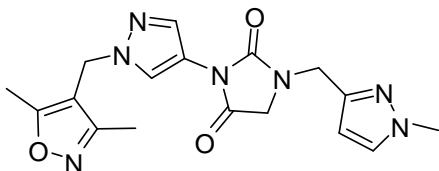
[0529] Одержували як у прикладі 10-35 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і бензо[d][1,3]діоксол-5-ілметанолу. Вихід: 19 %. ¹Н ЯМР (ДМСО, 400 МГц): (δ. 143 (s, 3H), 2.408 (s, 3H), 3.977 (s, 2H), 4.440 (s, 2H), 5.202 (s, 2H), 6.003 (s, 2H), 6.897 (m, 3H), 7.788 (s, 1H), 8.181 (s, 1H). МС М+Н розрах. 410.1; експер. 410.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.07 мкМ.

Приклад 10-37: 1-(3-((диметиламіно)метил)бензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон:



[0530] 3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (275 мг, 1 ммоль) 1,3-біс(бромметил)бензол (263 мг, 1 ммоль) і карбонат цезію (325мг, 1 ммоль) розчиняли в 2 мл ДМФ й опромінювали в мікрохвильовому реакторі при 165 °С протягом 5 хвилин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, і видаляли осад у виді солі за допомогою фільтрування. Прозорий розчин, що містить неочищений продукт, концентрували й повторно розчиняли в етилацетаті. Органічний розчин двічі промивали водою, а потім сольовим розчином. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію й випаровували з одержанням неочищеного продукту, який переносили на наступну стадію без подальшого очищення або аналізу. 1-(3-(Бромметил)бензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 42а) (152 мг, 0.3 ммоль), диметиламін (2 М розчин у ТГФ) (1.5 мл, 3 ммоль) і гідрид натрію (9 мг, 0.36 ммоль) розчиняли в 1 мл безводного ТГФ. Реакційну суміш поміщали в мікрохвильовий реактор на 5 хвилин при 120 °С. Неочищений продукт повторно розчиняли в 2 мл етанолу й очищали методом ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил/вода, 25 хвилин) з одержанням 1-(3-((диметиламіно)метил)бензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (16 мг, 13 %). МС М+Н розрах. 423.1; експер. 423.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.2 мкМ.

Приклад 10-38: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-((1-метил-1Н-піразол-3-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон:

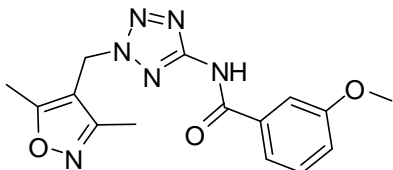


[0531] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-(бромметил)-1-метил-1H-піразолу. Вихід 19 %. МС М+Н розрах. 370.1; експер. 370. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.4 мкМ.

5

Приклад 10-39:
метоксибензамід

N-(2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2H-тетразол-5-іл)-3-



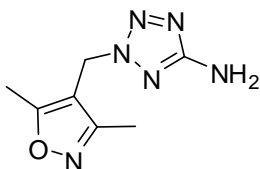
[0532] 2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2H-тетразол-5-амін (приклад 10-39а) (102 мг, 0.528 ммоль), 3-метоксибензоїл хлорид (0.065 мл, 0.528 ммоль) і піридин (0.043 мл, 0.528 ммоль) в ацетонітрилі (3 мл) перемішували при 100 °С протягом однієї години. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (30 мл) і промивали сольовим розчином (30 мл). Органічні речовини сушили над сульфатом натрію, концентрували й очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (система розчинників: ацетонітрил/вода, 10 % - 100 % градієнт, 25 хвилинна серія), одержуючи N-(2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2H-тетразол-5-іл)-3-метоксибензамід у виді білої кристалічної твердої речовини (60 мг, 35 % вихід) МС М+Н розрах. 329.1, експер. 329. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆): δ 2.02 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 5.78 (s, 2H), 7.16 (m, 1H), 7.42 (t, J=8 Гц, 2H), 7.54 (m, 1H), 11.3 (s, 1H). IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркого смаку hT2R8 склала 1.87 мкМ.

10

15

20

Приклад 10-39а:2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2H-тетразол-5-амін



[0533] 2H-тетразол-5-амін (1.29 г, 12.5 ммоль), 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазол (1.56 мл, 12.5 ммоль) і карбонат калію (1.73 г, 15.5 ммоль) у ДМФ (20 мл) нагрівали до 80 °С при перемішуванні протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли дихлорметаном (100 мл) і промивали послідовно сольовим розчином і водою. Органічні речовини сушили над сульфатом натрію й концентрували за допомогою роторного випарника. Неочищений продукт очищали методом хроматографії на силікагелі (0 – 10 % градієнт етилацетат/дихлорметан), одержуючи 2-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-2H-тетразол-5-амін у виді білої кристалічної твердої речовини (970 мг, 40 % вихід). МС М+Н розрах. 195.1, експер. 195.

25

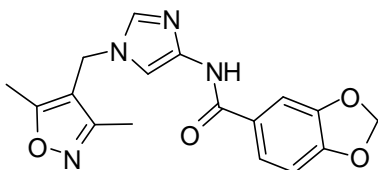
30

Приклад

10-40:

іл)бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксамід

N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-імідазол-4-



[0534] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-імідазол-4-амін (приклад 10-40а) (110 мг, 0.57 ммоль), бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоніл хлорид (105 мг, 0.57 ммоль) і триетиламін (90 мкл, 0.69 ммоль) у дихлорметані перемішували протягом 16 годин. Реакційну суміш розбавляли дихлорметаном (30 мл) і промивали послідовно сольовим розчином і водою. Органічні речовини

35

сушили над сульфатом натрію й концентрували шляхом роторного випарювання. Неочищений продукт очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (система розчинників: ацетонітрил/вода, 10 % - 100 % градієнт, 25 хвилинна серія) з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-імідазол-4-іл)бензо[d][1,3]діоксол-5-карбоксаміду у виді білої кристалічної твердої речовини (32 мг, 15 % вихід). МС М+Н розрах. 341.3, експер. 341.3. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ 2.08 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 5.02 (s, 2H), 6.07 (s, 2H), 6.95 (d, J=8.4 Гц, 1H), 7.27 (d, J=1.6 Гц, 1H), 7.54 (m, 3H), 10.6 (s, 1H). IC₅₀ для зазначеної сполуки при інгібуванні рецептора гіркої смаку hT2R8 складала 12.1 мкМ.

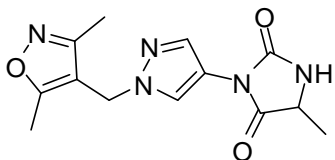
Приклад 10-40a: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-імідазол-4-амін

[0535] 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-імідазол-1-іл)метил)ізоксазол (приклад 10-40b) (1.0 г, 4.5 ммоль) і 10 % паладій на деревинному вугіллі (200 мг) у метанолі (40 мл) струшували на апараті для струшування Парра при тиску водню 2.5 бар протягом 2 годин. Після фільтрування через шар целіту з наступним роторним випарюванням одержували 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-імідазол-4-амін у виді жовтуватого-червоної твердої речовини (800 мг, 93 % вихід). МС М+Н розрах. 193, експер. 193.

Приклад 10-40b: 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-імідазол-1-іл)метил)ізоксазол

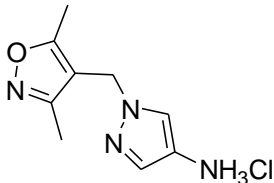
[0536] 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-імідазол-1-іл)метил)ізоксазол одержували способом, аналогічним описаному в прикладі 10-41с, шляхом алкілювання 4-нітро-1H-імідазолу, одержуючи 3,5-диметил-4-((4-нітро-1H-імідазол-1-іл)метил)ізоксазол у виді білої кристалічної твердої речовини (5.0 г, 80 % вихід). МС М+Н розрах. 223, експер. 223. ¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ, ppm: 2.09 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 5.15 (s, 2H), 7.90 (d, J=1.6 Гц, 1H), 8.35 (d, J=1.9 Гц, 1H).

Приклад 10-41: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діон



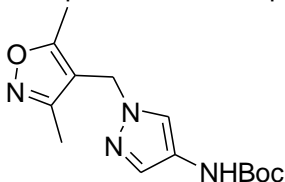
[0537] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (приклад 10-41a) (1.0 г, 5.20 ммоль), етил-2-ізоціанатпропіонат (0.745 г, 5.20 ммоль) і триетиламін (1.5 мл, 10.4 ммоль) змішували в EtOH (20 мл). Реакційну суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 12 годин і потім залишали охолоджуватися до кімнатної температури. Розчинник видаляли під вакуумом, при цьому через якийсь час формувалися кристали. Кристали збирали й промивали гексаном з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діону при 80 % виході у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 1.53-1.51 (d, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 4.21-4.19 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 6.00 (bs, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.3 мкМ.

Приклад 10-41a: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид



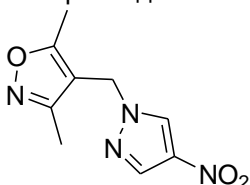
[0538] Трет-бутил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-ілкарбамат (приклад 10-41b) (592 мг, 2 ммоль) перемішували в розчині 4N HCl у діоксані (20 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин. Розчинник видаляли, і залишок розчиняли в 1/1 суміші етилацетат/гексан (30 мл) і двічі концентрували. Тверду речовину розтирали в порошок з гексаном і збирали за допомогою фільтрування, одержуючи 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (500 мг, 99 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 5.16 (s, 2H), 7.51 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 10.27 (bs, 3H).

Приклад 10-41b: трет-бутил 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-ілкарбамат



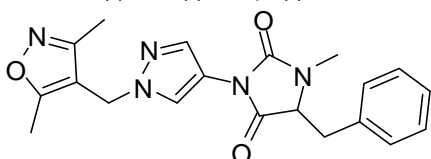
[0539] 3,5-Диметил-4-((4-нітро-1Н-піразол-1-іл)метил)ізоксазол (приклад 10-41с) (12 г, 53.8 ммоль) і ВОС ангідрид (12.8 г, 64 ммоль) розчиняли в 3/1/1 суміші MeOH/EtOH/ТГФ (300 мл) у реакційній колбі Парра, а потім додавали 10 % Pd/C (1.5 г). Суміш струшували в гідрогенізаторі Парра при 2 атмосферах водню протягом 3 годин. Суміш фільтрували через 3-дюймовий шар целіту й концентрували на роторному випарнику. Олію рожевих кольорів очищали методом хроматографії на силікагелі (25 % етилацетат у гексані) з одержанням трет-бутил-1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-ілкарбамату (12.6 г, 80 %) у виді рожевої/червоної олії, яка затвердівала при стоянні з утворенням ясно-рожевої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.41 (s, 9H), 2.10 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.90 (s, 2H), 6.19 (bs, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.50 (s, 1H).

Приклад 10-41с: 3,5-диметил-4-((4-нітро-1Н-піразол-1-іл)метил)ізоксазол



[0540] 1Н-піразол (10 г, 147 ммоль) додавали маленькими порціями до концентрованої H₂SO₄ (100 мл), охолоджували до 0 °С за допомогою бані лід/вода, підтримуючи температуру у середині посуду нижче 40 °С. Обережно по краплях додавали до реакційної суміші концентровану HNO₃ (10 мл), підтримуючи температуру у середині посуду нижче 55 °С. Потім реакційну суміш нагрівали до 55 °С і перемішували протягом 5 годин. Суміш охолоджували до 0 °С й обережно підлговували (рН~8) водним розчином NaOH (110 г NaOH в 150 мл H₂O) до утворення білого осаду, ретельно підтримуючи температуру розчину нижче 40 °С. Білу тверду речовину збирали за допомогою фільтрування й промивали етилацетатом/гексаном (1/3), потім висушували у вакуумі з одержанням 4-нітро-1Н-піразолу (7 г, 42 % вихід виділеного продукту). ¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 137.0, 126.4. До 4-нітро-1Н-піразолу (9 г, 80 ммоль) у ДМФ (100 мл, (100 МГц δ) додавали карбонат цезію (26 г, 80 ммоль), а потім додавали 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазол (12.3 г, 85 ммоль). Реакційну суміш перемішували в ДМФ (100 мл) при 80 °С протягом 30 хвилин, потім охолоджували, розбавляли H₂O (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні фази сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Залишок переносили в етилацетат (200 мл) і промивали H₂O (2х, 100 мл). Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) і збирали за допомогою фільтрації. Продукт висушували в глибокому вакуумі з одержанням 3,5-диметил-4-((4-нітро-1Н-піразол-1-іл)метил)ізоксазолу (12 г, 67 %) у виді світло-жовтої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.23 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 8.02 (s, 1H), 8.08 (s, 1H).

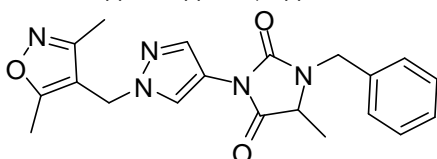
Приклад 10-42: 5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метилімідазолідин-2,4-діон



[0541] Одержували як у прикладі 10-5 з 5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-2) і йодметану. Вихід: 95 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.04 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.96 (s, 3H), 3.24-3.23 (m, 2 H, J=4.0 Гц), 4.23-4.21 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 7.24-7.23 (m, 5H, J=4.0 Гц), 7.70 (s, 1H), 7.87 (s, 1H).

[0542] Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.15 мкМ.

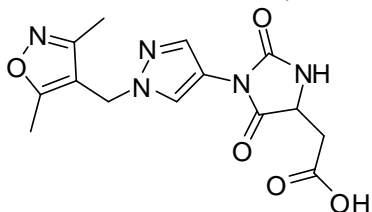
Приклад 10-43: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діон



[0543] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діону (приклад 10-41) і бензилброміду. Вихід: 50 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.44 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.18 (d, J=8 Гц, 2H), 4.22 (t, 1H, J=4

Гц)), 5.06 (s, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 5H), 7.94 (s, 1H), 8.10 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.02 мкМ.

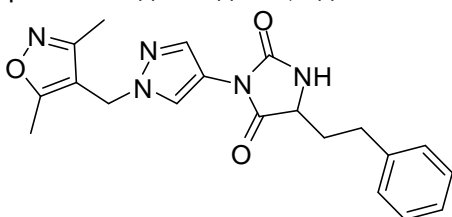
Приклад 10-44: 2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)оцтова кислота



5

[0544] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1a) і Н-Asp-ОМе. Вихід: 85 %. МС М+Н розрах. 334.1; експер. 334.1

Приклад 10-45: 3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-фенетилімідазолідин-2,4-діон

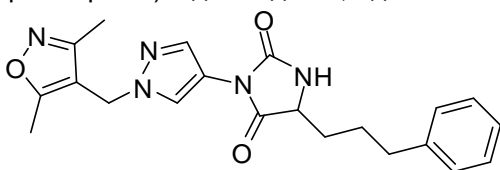


10

[0545] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1a) і метил-2-аміно-4-фенілбутаноату. Вихід: 15 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.09-2.02 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.83-2.78 (m, 2H), 4.13-4.09 (t, 1H, J=8 Гц), 5.05 (s, 2H), 5.95 (bs, 1H), 7.30-7.19 (m, 5H), 7.95 (s, 1H), 8.03 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.22 мкМ.

15

Приклад 10-46: 3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(3-фенілпропіл)імідазолідин-2,4-діон

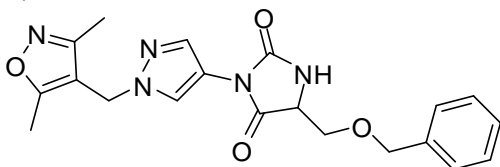


20

[0546] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1a) і метил-2-аміно-5-фенілпентаноату. Вихід: 20 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.72-1.68 (m, 1H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.99-1.91 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.69-2.63 (t, J=8 Гц, 2H), 4.13 (bs, 1H), 5.05 (s, 2H), 5.95 (bs, 1H), 7.30-7.19 (m, 5H), 7.95 (s, 1H), 8.03 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.17 мкМ.

25

Приклад 10-47: 5-(бензилоксиметил)-3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон

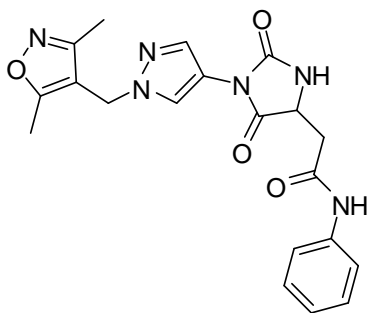


30

[0547] Одержували як у прикладі 10-1 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазиду (приклад 10-1a) і метил-2-аміно-3-(бензилокси)пропаноату. Вихід: 32 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.19 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 3.70-3.67 (m, 1H), 3.89-3.86 (m, 1H), 4.31-4.30 (m, 1H), 4.56-4.32 (d, J=1.6 Гц, 2H), 5.05 (s, 2H), 5.62 (bs, 1H), 7.35-7.29 (m, 5H), 7.88 (s, 1H), 8.04 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.76 мкМ.

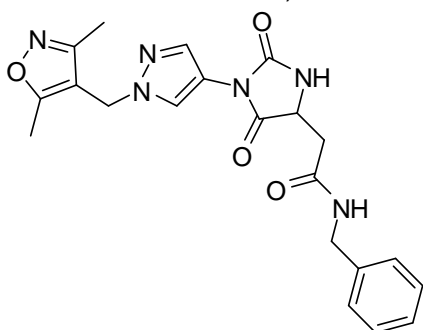
35

Приклад 10-48: 2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)-N-фенілацетамід



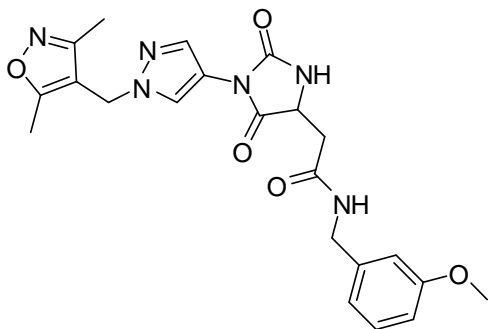
[0548] 3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)оцтову кислоту (приклад 10-44) (100 мг, 0.3 ммоль), анілін (33 мг, 0.36 ммоль), PyBOP (гексафторфосфат бензотриазол-1-іл-гідрокси-триспіролідино-фосфонію) (187 мг, 0.36 ммоль) і триетиламін (0.05 мл, 0.36 ммоль) змішували в ДМФ (1 мл). Реакційну суміш перемішували при 65 °С протягом 4 годин. Реакційну суміш залишали охолоджуватися до кімнатної температури і потім розбавляли етилацетатом (2 мл). Органічну фазу промивали насиченим розчином бікарбонату натрію (2х, 2 мл) і потім насиченим розчином NaCl (1 мл). Органічну фазу екстрагували, сушили над безводним Na₂SO₄ і фільтрували. Неочищений продукт повторно суспендували в MeOH (1мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O; 16 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й видаляли розчинник на роторному випарнику з одержанням 2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)-N-фенілацетаміду у виді білої твердої речовини (50 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.18 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.72 (m, 1 H), 3.14-3.13 (d, 1H, J=4 Гц), 4.54-4.51 (d, J=8 Гц 1H), 5.04 (s, 2H), 6.53 (bs, 1H), 7.15-7.13 (m, 1H), 7.33-7.22 (m, 2H), 7.47-7.45 (d, J=8 Гц, 2H), 7.78 (bs, 1H), 7.09 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.75 мкМ.

Приклад 10-49: N-бензил-2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)ацетамід



[0549] Одержували як у прикладі 10-48 з 3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)оцтової кислоти (приклад 10-44) і бензиламіну. Вихід: 30 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.18 (s, 3 H), 2.41 (s, 3 H), 2.56-2.52 (m, 1H, J=16 Гц), 2.56-2.52 (m, 1H), 3.00-2.96 (m, 1H), 4.45-4.44 (d, J=5.6 Гц, 2H), 5.04 (s, 2H), 5.96 (bs, 1H), 6.36 (bs, 1H), 7.36 – 7.25 (m, 5H), 7.90 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.3 мкМ.

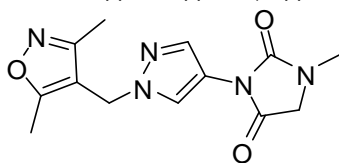
Приклад 10-50: 2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)-N-(3-метоксибензил)ацетамід



[0550] Одержували як у прикладі 10-48 з 3-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-

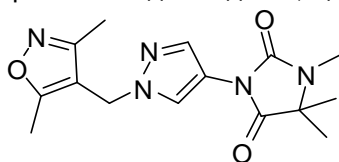
піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)оцтової кислоти (приклад 10-44) і (3-метоксифеніл)метанаміну. Вихід: 50 %. РХ/МС; очікуване значення 453; експер. 453.1 Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC_{50} 1.7 мкМ.

Приклад 10-51: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метилімідазолідин-2,4-діон



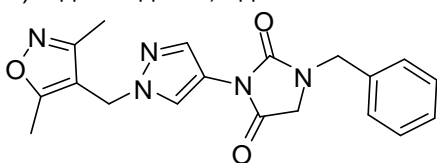
[0551] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (50 мг, 0.182 ммоль) і карбонат цезію (60 мг, 0.185 ммоль) змішували в ДМФ (1 мл) протягом 15 хвилин в атмосфері азоту при кімнатній температурі. Потім, додавали йодметан (14 мг, 0.185 ммоль) і продовжували перемішувати реакційну суміш протягом додаткових 2 годин. Додавали H_2O (2 мл) і екстрагували продукт етилацетатом (1 мл, 2х). Органічну фазу збирали й промивали насиченим розчином бікарбонату натрію (2 мл, 2х), висушували й фільтрували. Розчинник видаляли в потоці азоту і потім додатково висушували в глибокому вакуумі з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метилімідазолідин-2,4-діону у виді білої твердої речовини (42 мг, 80 %). Вихід: 80 %. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 2.18 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 3.06 (s, 3H), 3.95 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 7.89 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.58 мкМ.

Приклад 10-52: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,5,5-триметилімідазолідин-2,4-діон



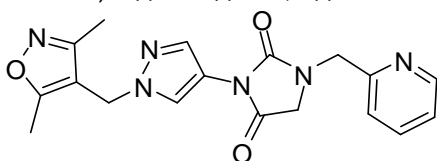
[0552] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діон (приклад 10-41) (50 мг, 0.173 ммоль) і 60 % Na (8 мг, 0.190 ммоль) змішували в ДМФ (1 мл) протягом 30 хвилин. Додавали MeI (0.04 мл, 0.190 ммоль) і реакційну суміш перемішували додаткові 4 години. Реакційну суміш підкисляли 1N HCl і розбавляли етилацетатом (2 мл). Органічну фазу висушували, фільтрували й видаляли розчинник у потоці азоту. Неочищений продукт повторно суспендували в MeOH (1 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H_2O : 16 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й видаляли розчинник під вакуумом з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,5,5-триметилімідазолідин-2,4-діону у виді білої твердої речовини (25 мг, 50 %). 1H ЯМР ($CDCl_3$, (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.45 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.94 (s, 3 H), 5.05 (s, 2 H), 7.92 (s, 1 H), 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.80 мкМ.

Приклад 10-53: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



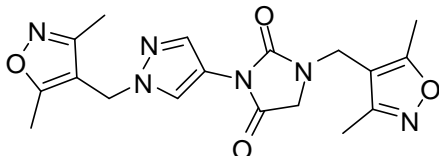
[0553] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і бензилброміду. Вихід: 40 %. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 2.18 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 4.61 (s, 2 H), 5.06 (s, 2H), 7.40 – 7.27 (m, 5H), 7.92 (s, 1 H), 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.09 мкМ.

Приклад 10-54: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(піридин-2-ілметил)імідазолідин-2,4-діон



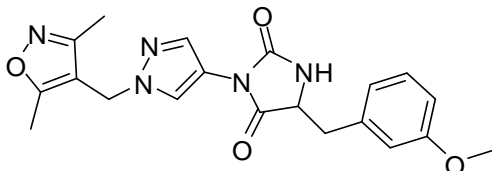
[0554] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й 2-(бромметил)піридину. Вихід: 50 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.12 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 7.72-7.23 (m, 4H), 7.92 (s, 1H) 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.68 мкМ.

Приклад 10-55: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



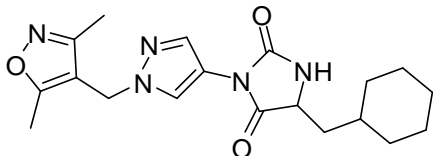
[0555] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й 4-(хлорметил)-3,5-диметилізоксазолу. Вихід: 50 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.19 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.43-2.42 (d, J=5.2 Гц, 6H), 3.82 (s, 2H), 4.40 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 7.92 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.04 мкМ.

Приклад 10-56: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(3-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон



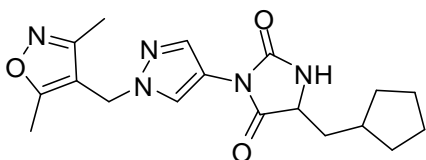
[0556] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлорид (400 мг, 2.08 ммоль), дипіридин-2-іл карбонат (450 мг, 2.08 ммоль) і триетиламін (0.290 мл, 2.08 ммоль) перемішували в дихлорметані (7 мл) протягом 12 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш концентрували під вакуумом з одержанням 4-((4-ізоціанато-1H-піразол-1-іл)метил)-3,5-диметилізоксазолу у виді брудно-білої твердої речовини при кількісному виході. Додавали етанол (1 мл) разом з метил-2-аміно-3-(3-метоксифеніл)пропаноатом (68 мг, 0.327 ммоль) і триетиламіном (0.064 мл, 0.461 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 12 годин, потім залишали охолоджуватися до кімнатної температури. Розчинник видаляли в потоці азоту. Неочищений продукт повторно суспендували в MeOH (1 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 16 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й видаляли розчинник під вакуумом з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(3-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діону у виді білої твердої речовини, вихід: 50 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 3.34-3.33 (d, J=3.2 Гц, 1H), 3.31-3.29 (d, J=8 Гц, 1H), 3.76 (s, 3H), 4.33-4.30 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 5.95 (bs, 1H), 7.25-7.21 (t, 1H), 6.82-6.78 (m, 3H), 7.85 (s, 1H), 7.99 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.13 мкМ.

Приклад 10-57: 5-(циклогексилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



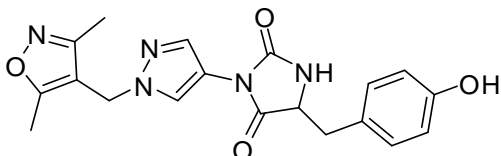
[0557] Одержували як у прикладі 10-56 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41a) і метил-2-аміно-3-циклогексилпропаноату. Вихід: 30 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1.06-0.95 (m, 2H), 1.29-1.15 (m, 3H), 1.60-1.50 (1H) 1.77-1.67 (7H), 1.91-1.85 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.19-4.15 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 6.01 (bs, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.96 мкМ.

Приклад 10-58: 5-(циклопентилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



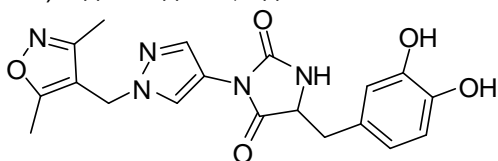
[0558] Одержували як у прикладі 10-56 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41а) і метил-2-аміно-3-циклопентилпропаноату. Вихід: 50 %. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1. 20-1.14 (m, 3H), 1.68-1.55 (m, 6H), 2.04-1.92 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 4.14-4.11 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 5.52 (bs, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.06 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.31 мкМ.

Приклад 10-59: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-(4-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон



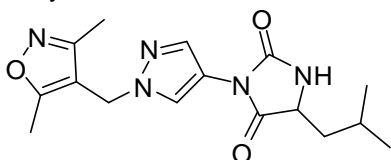
[0559] Одержували як у прикладі 10-56 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41а) і метил-2-аміно-3-(4-гідроксифеніл)пропаноату. Вихід: 50 %. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 2.41 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 3.26-3.25 (d, 1H, J=4 Гц), 3.23-3.22 (d, J=4 Гц, 1H), 4.31-4.28 (m, 1H), 5.04 (s, 2H), 5.77-5.74 (bs, 1H), 7.07-7.04 (d, J=12 Гц, 2H), 6.75-6.73 (d, J=8 Гц, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 9.43 (bs, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.33 мкМ.

Приклад 10-60: 5-(3,4-дигідроксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



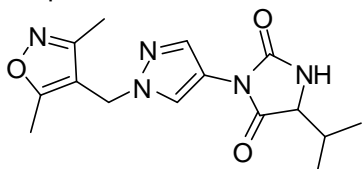
[0560] Одержували як у прикладі 10-56 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41а) і метил-2-аміно-3-(3,4-дигідроксифеніл)пропаноату. Вихід: 50 %. МС М+Н розрах. 398.1; експер. 398.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.51 мкМ.

Приклад 10-61: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-ізобутилімідазолідин-2,4-діон



[0561] Одержували як у прикладі 10-41 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41а) і етил-2-ізоціанато-4-метилпентаноату. Вихід: 50 %. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 1. 01-0.98 (m, 8H), 1.87-1.82 (m, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.13-4.12 (t, 1H), (5.05 (s, 2H), 5.70 (bs, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.0 мкМ.

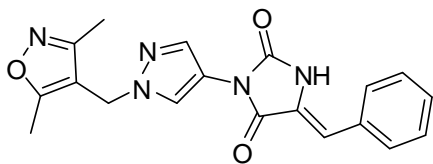
Приклад 10-62: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-ізопропілімідазолідин-2,4-діон



[0562] Одержували як у прикладі 10-41 з 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-аміну гідрохлориду (приклад 10-41а) і етил-2-ізоціанато-3-метилбутаноату. Вихід: 30 %. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 0. 96-0.94 (d, 3H, J=7.2 Гц), 1.09-1.07 (d, 3H, J=8 Гц), 2.19 (s, 3H), 2.26-2.22 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 4.02 (s, 1H), 5.05 (s, 2H), 5.53 (bs, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.05 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.1 мкМ.

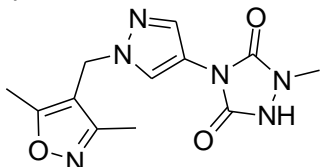
Приклад 10-63: (Z)-5-бензиліден-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-

іл)імідазолідин-2,4-діон



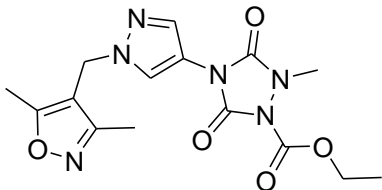
[0563] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (275 мг, 1 ммоль), бензальдегід (140 мг, 1.3 ммоль) і ацетат натрію (205 мг, 2.5 ммоль) у крижаній оцтовій кислоті (3 мл) піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі протягом 7 годин при 185 °С. Після охолодження суміш розбавляли H₂O (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим водним розчином карбонату натрію, сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/1) і висушували в глибокому вакуумі з одержанням (Z)-5-бензиліден-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (173 мг, 48 %) у виді ясно-жовтої твердої речовини. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): δ 2.14 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 6.59 (s, 1H), 5.20 (s, 2H), 7.33-7.40 (m, 3H), 7.66 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 11.01 (bs, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.34 мкМ.

Приклад 10-64: 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



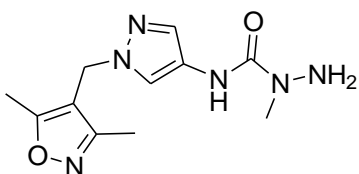
[0564] Етил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-метил-3,5-діоксо-1,2,4-триазолідин-1-карбоксилат (3.2 г, 8.8 ммоль) перемішували в (1/1) суміші MeOH/1N водний NaOH (100 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 30 хвилин. Суміш підкисляли водним 1N HCl (150 мл), екстрагували етилацетатом (3х, 100 мл), висушували над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували з одержанням 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (2.3 г, 89 %) у виді жовтої твердої речовини. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ) 2.18 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 7.94 (s, 1H), 8.13 (s, 1H).

Приклад 10-64а: Етил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-метил-3,5-діоксо-1,2,4-триазолідин-1-карбоксилат



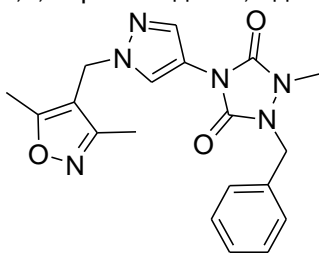
[0565] Етилхлорформіат (1.3 г, 12 ммоль) додавали в суміш N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метилгідразинкарбоксаміду (приклад 10-64b) (2.5 г, 9 ммоль) і триетиламіну (1.2 г, 12 ммоль) в ацетонітрилі (100 мл). Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 1 години, охолоджували, потім розбавляли 1N водним HCl (150 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 75 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Тверду речовину розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/3) і висушували в глибокому вакуумі з одержанням етил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-2-метил-3,5-діоксо-1,2,4-триазолідин-1-карбоксилату (3.2 г, 94 %) у виді білої твердої речовини. ¹Н ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): ((δ) 1.28 (t, J=7.2 Гц, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 4.30 (t, J=7.2 Гц, 2H), 5.21 (s, 2H), 7.73 (m, 1H), 8.16 (s, 1H).

Приклад 10-64b: N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-метилгідразинкарбоксамід



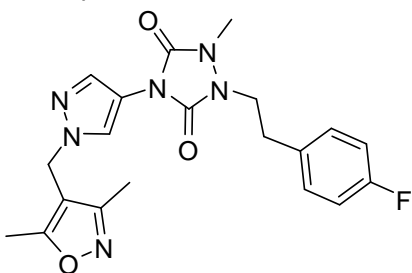
[0566] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазид (приклад 10-1a) (1.25 г, 5.3 ммоль) перемішували в толуолі (30 мл) при температурі кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 40 хвилин. Суміш охолоджували до температури навколишнього середовища й додавали метилгідрозин (0.3 мл, 260 мг, 5.6 ммоль) і суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хвилин. Після охолодження реакції до кімнатної температури розчинник видаляли на роторному випарнику і твердий продукт розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (2/5) й висушували в глибокому вакуумі з одержанням N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метилгідрозинкарбоксаміду (1.1 г, 79 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.09 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 4.61 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.72 (m, 1H), 8.78 (s, 1H).

Приклад 10-65: 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



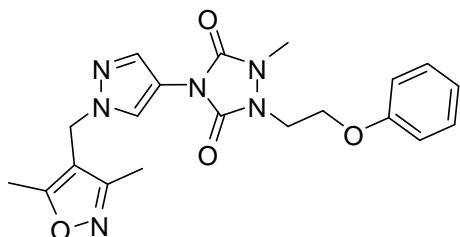
[0567] 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон (приклад 10-64) (785 мг, 2.7 ммоль) розчиняли в ацетонітрилі (50 мл). Додавали триетиламін (1 г, 10 ммоль) і бензилбромід (510 мг, 3 ммоль) і реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 12 годин. Потім суміш концентрували на роторному випарнику, розчиняли в метанолі (5 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрилу в H₂O: 25 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували й концентрували і продукт перекристалізовували з етанолу з одержанням 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (210 мг, 20 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.13 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 4.81 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.30-7.35 (m, 5H), 7.76 (s, 1H), 8.18 (s, 1H). МС М+Н розрах. 381.1; експер. 381.1. Температура плавлення: 124-126 °C. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.02 мкМ.

Приклад 10-66: 1-Бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



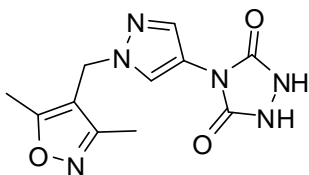
[0568] Одержували як у прикладі 10-65 з 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-64) і 1-(2-брометил)-4-фторбензолу. Вихід: 14 %. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ2.18 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.87 (t, J=6.8 Гц, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.83 (t, J=7.2 Гц, 2H), 5.03 (s, 2H), 6.95 (t, J=8.4 Гц, 2H), 7.14 (t, J=8 Гц, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.95 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.01 мкМ.

Приклад 10-67: 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-2-(2-феноксиетил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



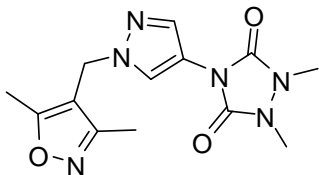
[0569] Одержували як у прикладі 10-65 з 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-64) і (2-брометокси)бензолу. Вихід: 20 %. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц): (δ2.13 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 3.99 (t, J=4.4 Гц, 2H), 4.13 (t, J=4.8 Гц, 2H), 5.20 (s, 2H), 6.80 (d, J=8 Гц, 2H), 6.90 (t, J=7.1 Гц, 1H), 7.22 (t, J=8 Гц, 2H), 7.75 (s, 1H), 8.17 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.031 мкМ.

Приклад 10-68: 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



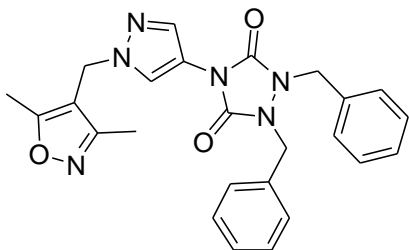
[0570] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазид (приклад 10-1а) (1 г, 4.1 ммоль) кип'ятили зі зворотним холодильником у толуолі (100 мл) протягом однієї години. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й додавали етилгідразинкарбоксилат (0.45 г, 43 ммоль). Реакційну суміш нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником і перемішували протягом 1 години, потім охолоджували й концентрували на роторному випарнику. Залишок переносили в етанол (100 мл) і додавали карбонат калію (100 мг). Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 12 годин, потім фільтрували, охолоджували до температури навколишнього середовища й нейтралізували оцтовою кислотою (приблизно 7 крапель). Розчинник видаляли на роторному випарнику і тверду речовину, що утворилася, розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) з одержанням 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (0.98 г, 85 %) у виді брудно-білої твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ2.18 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.98 (s, 2H) 7.16 (s, 1H), 7.38 (s, 1H).

Приклад 10-69: 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2-диметил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



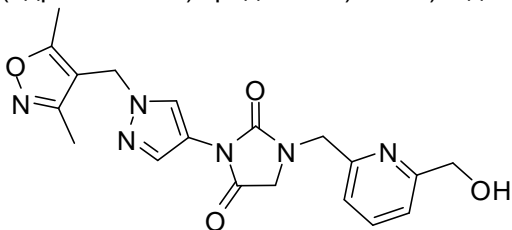
[0571] 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон (приклад 10-68) (100 мг, 0.36 ммоль), метилйодид (141 мг, 1 ммоль) і карбонат цезію (325 мг, 1 ммоль) перемішували в 2/1 суміші ацетонітрил/ДМФ (5 мл) при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин. Суміш розбавляли водним 1N HCl (100 мл) і екстрагували етилацетатом (3х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, концентрували, і неочищений залишок переносили в MeOH й очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрилу в H₂O: 25 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували і концентрували з одержанням 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2-диметил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (89 мг, 80 %) у виді прозорої напівтвердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ2.18 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 3.22 (s, 6H), 5.04 (s, 2H), 7.88 (s, 1H), 8.03 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.6 мкМ.

Приклад 10-70: 1,2-дибензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



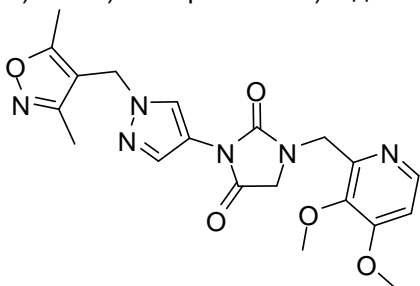
[0572] Одержували як у прикладі 10-65 з 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1,2-диметил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-69) і бензилброміду. Вихід: 69 %. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): (δ 2.14 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 4.65 (s, 4H), 4.99 (s, 2H), 7.06-7.08 (m, 4H), 7.19-7.25 (m, 6H), 7.86 (s, 1H), 8.02 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.8 мкМ.

Приклад 10-71: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-((6-гідроксиметил)піридин-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон



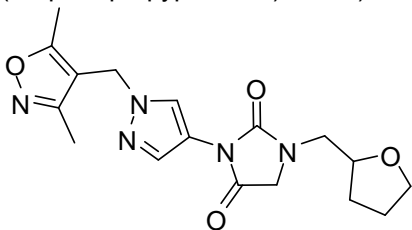
[0573] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й 6-бромметил-2-піридинметанолу. Вихід: 35 %. МС М+Н розрах. 397.2; експер. 397.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.72 мкМ.

Приклад 10-72: 1-((3,4-диметоксипіридин-2-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



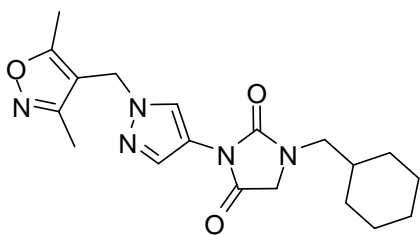
[0574] Одержували як у прикладі 10-5 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й 3,4-диметокси-2-хлорметилпіридину гідрохлориду. Вихід: 26 %. МС М+Н розрах. 360.2; експер. 360.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 1.0 мкМ.

Приклад 10-73: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-((6-(тетрагідрофуран-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон



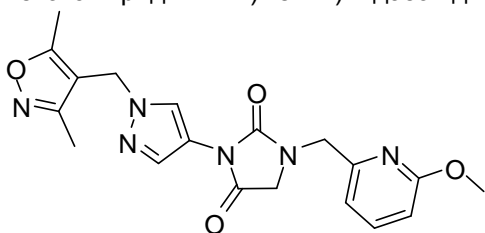
[0575] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону й тетрагідрофурфурилброміду. Вихід: 28 %. МС М+Н розрах. 427.2; експер. 427.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC_{50} 1.4 мкМ.

Приклад 10-74: 1-(циклогексилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



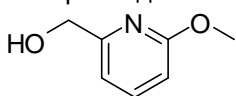
[0576] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і бромметилциклогексану. Вихід: 20 %. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ) 0.88 (q, J=10.4 Гц, 2H), 1.09-1.19 (m, 3H), 1.58-1.65 (m, 6H), 2.12 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 3.13 (d, J=7.2 Гц, 2H), 4.06 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.75 (s, 1H), 8.14 (s, 1H). МС М+Н розрах. 372.2; експер. 372.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.28 мкМ.

Приклад 10-75: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((6-метоксипіридин-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон



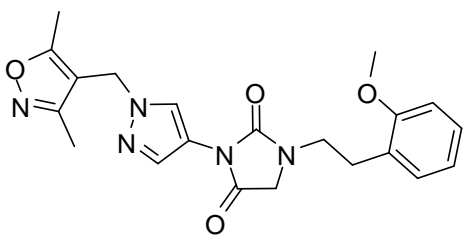
[0577] 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (100 мг, 0.4 ммоль), (6-метокси-піридин-2-іл)-метанол (приклад 10-75а) (101 мг, 0.7 ммоль), трибутилфосфін (147 мг, 0.7 ммоль) і 1,1'-азобіс(N, N-диметилформамід) (125 мг, 0.7 ммоль) розчиняли в ТГФ (5 мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом 15 годин. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (100 мл) і екстрагували етилацетатом (2х, 100 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок переносили в метанол (5 мл) і очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрil в H₂O: 25 хвилинний градієнт). Чисті фракції поєднували, концентрували, потім повторно розчиняли в етилацетаті/гексані (1:9). Розчин охолоджували при 5 °С протягом 15 годин, при цьому утворилася біла тверда речовина. Осад збирали з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((6-метоксипіридин-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діону (5 мг, 4 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ) 2.11 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 4.17 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 6.69 (d, J=7.6 Гц, 1H), 6.96 (d, J=6.8 Гц, 1H), 7.67 (d, J=6.8 Гц, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.17 (s, 1H). МС М+Н розрах. 397.2; експер. 397.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.23 мкМ.

Приклад 10-75а: (6-метоксипіридин-2-іл)метанол



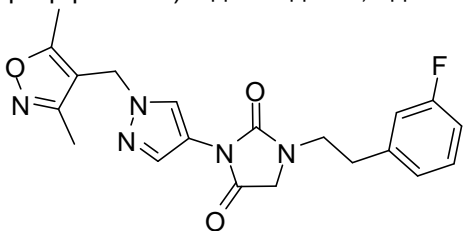
[0578] Метил-6-метоксипіридин-2-карбоксилат (2 г, 11.96 ммоль) у безводному метанолі (20 мл) охолоджували до 0 °С в атмосфері азоту й до розчину повільно додавали боргідрид натрію (1.36 г, 35.89 ммоль). Реакційну суміш залишали при перемішуванні при 0 °С на 30 хвилин, потім залишали нагріватися до кімнатної температури протягом 1 години. Реакційну суміш гасили водою й концентрували на роторному випарнику. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (100 мл) і екстрагували розчином дихлорметан/2-пропанол (2:1) (3х, 150 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику з одержанням (6-метоксипіридин-2-іл)метанолу (500 мг, 30 %) у виді олії. МС М+Н розрах. 140.1; експер. 140.1.

Приклад 10-76: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон



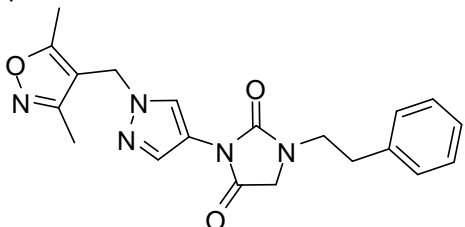
[0579] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 6) і 2-метоксифенетилброміду. Вихід: 52 %. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): (δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.80 (t, J=7.2 Гц, 2H), 3.51 (t, J=7.2 Гц, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.03 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 6.85 (t, J=7.2 Гц, 1H), 6.95 (d, J=8.4 Гц, 1H), 7.16-7.21 (m, 2H), 7.73 (s, 1H), 8.13 (s, 1H). МС М+Н розрах. 410.2; експер. 410.1. Температура плавлення: 97-98 °С. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.14 мкМ.

Приклад 10-77: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон



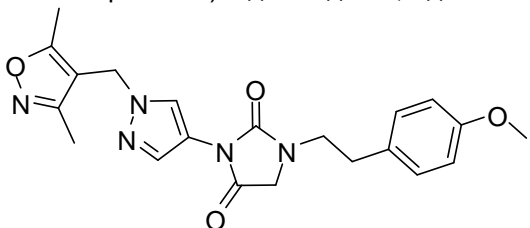
[0580] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-фторфенетилброміду. Вихід: 22 %. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): (δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.80 (t, J=7.2 Гц, 2H), 3.57 (t, J=7.2 Гц, 2H), 4.06 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 6.85 (dt, J=8.4, 2.0 Гц, 1H), 7.11 (t, J=8.4 Гц, 2H), 7.32 (q, J=7.8 Гц, 1H), 7.73 (s, 1H), 8.12 (s, 1H). МС М+Н розрах. 398.2; експер. 398.1. Температура плавлення: 110-111 °С. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.06 мкМ.

Приклад 10-78: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-фенетилімідазолідин-2,4-діон



[0581] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і фенетилброміду. Вихід: 37 %. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): (δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.83 (t, J=6.4 Гц, 2H), 3.55 (t, J=7.4 Гц, 2H), 4.03 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.18-7.30 (m, 5H), 7.73 (s, 1H), 8.13 (s, 1H). МС М+Н розрах. 380.2; експер. 380.1. Температура плавлення: 95-96 °С. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.14 мкМ.

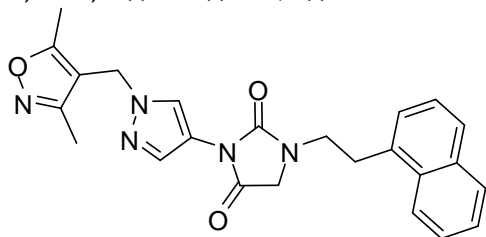
Приклад 10-79: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон



[0582] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 4-метоксифенетилброміду. Вихід: 32 %. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц): (δ 2.11 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.78 (t, J=7.4 Гц, 2H), 3.50 (t, J=7.4 Гц, 2H), 3.69 (s, 3H), 4.02 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 6.84 (d, J=8.4 Гц, 2H), 7.15 (d, J=8.4 Гц, 2H), 7.73 (s, 1H), 8.12 (s, 1H). МС М+Н розрах. 410.18; експер. 410.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.04 мкМ.

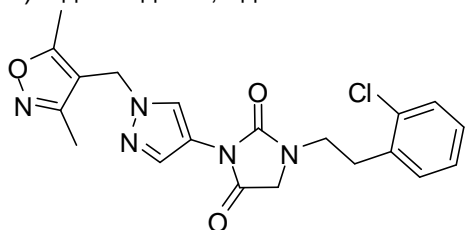
Приклад 10-80: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-нафталін-1-

іл)етил)імідазолідин-2,4-діон



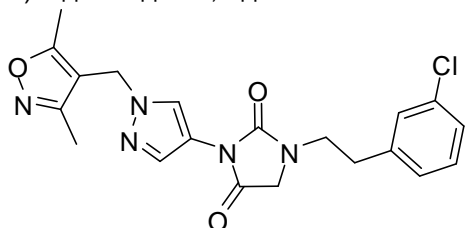
5 [0583] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 1-(2-брометил)нафталіну. Вихід: 20 %. МС М+Н розрах. 430.18; експер. 430.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 1.27 мкМ.

Приклад 10-81: 1-(2-хлорфенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



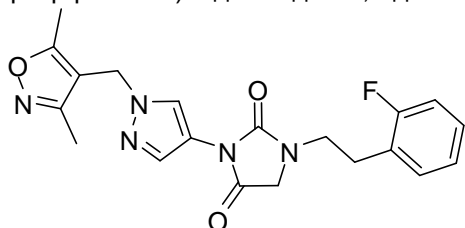
10 [0584] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 2-хлорфенетилброміду. Вихід: 25 %. МС М+Н розрах. 414.13; експер. 414.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.25 мкМ.

15 Приклад 10-82: 1-(3-хлорфенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



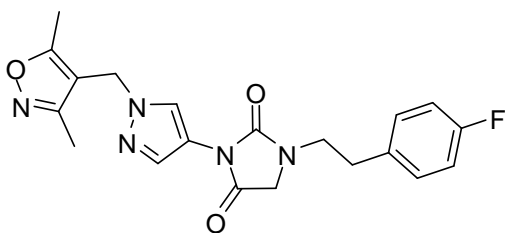
20 [0585] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-хлорфенетилброміду. Вихід: 27 %. МС М+Н розрах. 414.13; експер. 414.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.20 мкМ.

Приклад 10-83: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(2-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон



25 [0586] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 2-фторфенетилброміду. Вихід: 24 %. МС М+Н розрах. 398.16; експер. 398.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.13 мкМ.

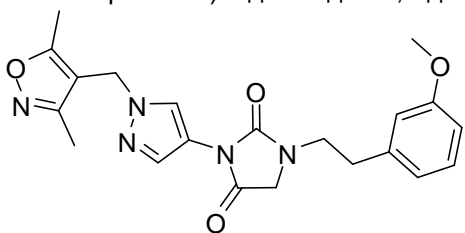
Приклад 10-84: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(4-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон



[0587] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 4-фторфенетилброміду. Вихід: 34 %. МС М+Н розрах. 398.16; експер. 398.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.01 мкМ.

5

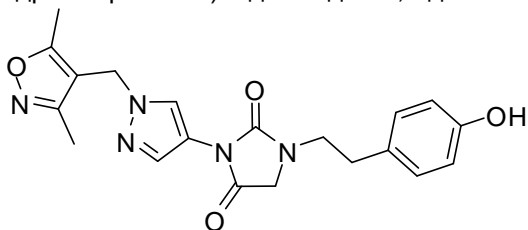
Приклад 10-85: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон



[0588] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3-метоксифенетилброміду. Вихід: 34 %. МС М+Н розрах. 410.18; експер. 410.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.16 мкМ.

10

Приклад 10-86: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(4-гідроксифенетил)імідазолідин-2,4-діон

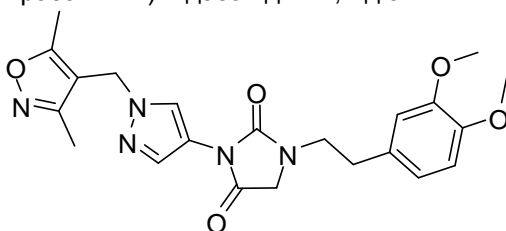


15

[0589] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 4-гідроксифенетилброміду. Вихід: 31 %. МС М+Н розрах. 396.16; експер. 396.1. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.41 мкМ.

20

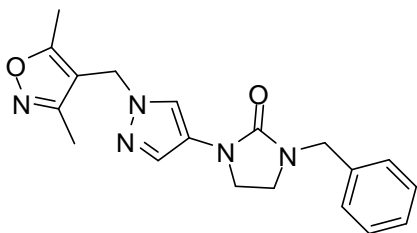
Приклад 10-87: 1-(3,4-диметоксифенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



[0590] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і 3,4-диметоксифенетилброміду. Вихід: 36 %. МС М+Н розрах. 440.19; експер. 440.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.26 мкМ.

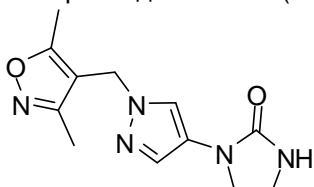
25

Приклад 10-88: 1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2-он



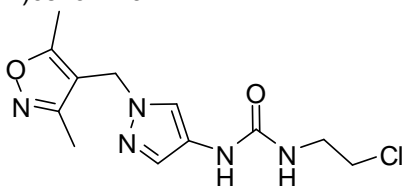
[0591] 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2-он (приклад 10-88a) (50 мг, 0.19 ммоль) і 60 % гідрид натрію (8 мг, 0.21 ммоль) у ДМФ (3 мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, потім охолоджували до 0 °С. До суміші додавали бензилбромід (33 мг, 0.19 ммоль) і залишали нагріватися при кімнатній температурі протягом 2 годин. Реакцію гасили метанолом і концентрували на роторному випарнику. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували дихлорметаном (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану в метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2-ону (21 мг, 31 %) у виді білої твердої речовини. МС М+Н розрах. 352.17; експер. 352.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.71 мкМ.

Приклад 10-88a: 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2-он



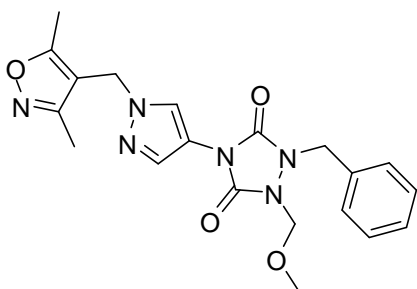
[0592] 1-(2-Хлоретил)-3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)сечовину (приклад 10-88b) (115 мг, 0.39 ммоль) і 60 % гідрид натрію (17 мг, 0.42 ммоль) у ДМФ (2 мл) перемішували при 0 °С протягом 15 хвилин, потім залишали нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні протягом 2 годин. Реакцію гасили метанолом і концентрували на роторному випарнику. Реакційну суміш розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували дихлорметаном (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану у метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2-ону (98 мг, 97 %) у виді білої твердої речовини. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ2.10 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 3.35-3.39 (m, 2H), 3.61 (d, J=8.8 Гц, 1H), 3.63 (d, J=10.4 Гц, 1H), 5.07 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.74 (s, 1H). МС М+Н розрах. 262.12; експер. 262.1.

Приклад 10-88b: 1-(2-хлоретил)-3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)сечовина



[0593] 1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-амін (419 мг, 2.18 ммоль) і 2-хлоретилізоціанат (230 мг, 2.18 ммоль) в ацетонітрилі (5 мл) нагрівали при 65 °С протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану в метанолі: 30 хвилинний градієнт), висушували й розтирали в порошок з етилацетатом/гексаном (1/9) з одержанням 1-(2-хлоретил)-3-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)сечовини (258 мг, 40 %) у виді жовтої твердої речовини. МС М+Н розрах. 298.10; експер. 298.1

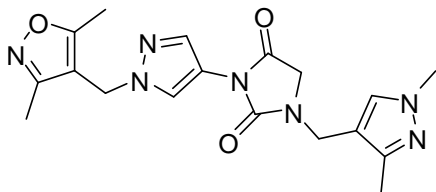
Приклад 10-89: 1-бензил-4-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(метоксиметил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



[0594] Одержували як у прикладі 10-91 з 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-91a) і бромметилметилового ефіру. Вихід: 18 %. МС М+Н розрах. 411.17; експер. 411.2. Як було показано, вищезгадану сполуку

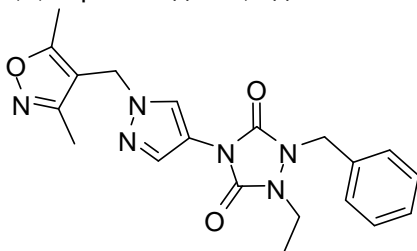
інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.02 мкМ.

Приклад 10-90: 1-((1,3-диметил-1H-піразол-4-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон



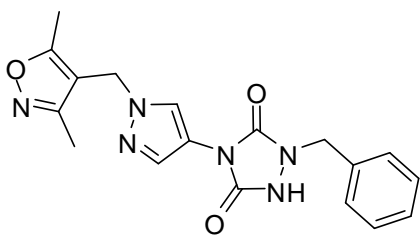
[0595] 3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (10a) (200 мг, 0.7 ммоль), 4-(хлорметил)-1,3-диметил-1H-піразол (144 мг, 1 ммоль) і карбонат цезію (325 мг, 1 ммоль) розчиняли в 2 мл ДМФ і піддавали дії випромінювання в мікрохвильовому реакторі при 165 °С протягом 5 хвилин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, і видаляли осад у виді солі за допомогою фільтрування. Одержували прозорий розчин, що містить неочищений продукт, і очищали методом ВЕРХ (10-95 % ацетонітрил/вода; 25 хвилин) з одержанням 1-((1,3-диметил-1H-піразол-5-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (150 мг, 53 %) у виді світло-коричневої твердої речовини. 12.09(Н ЯМР (ДМСО, 400 МГц): δ (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.99 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 6.06 (s, H), 7.77 (s, H), 8.17 (s, H),. МС М+Н розрах. протягом 384.2; експер. 384.2. Температура плавлення: 145-146 °С.

Приклад 10-91: 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-етил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



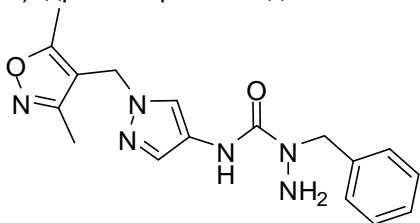
[0596] 1-Бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон (100 мг, 0.27 ммоль), брометан (149 мг, 1.36 ммоль) і карбонат цезію (355 мг, 1.1 ммоль) у ДМФ (5 мл) нагрівали при 80 °С протягом 15 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли сольовим розчином (50 мл) і екстрагували етилацетатом (2х, 50 мл). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували на роторному випарнику. Залишок очищали методом ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 25 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-етил-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (40 мг, 37 %) у виді олії. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц): (δ0.97 (t, J=7.2 Гц, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 3.58 (q, J=6.8 Гц, 2H), 4.80 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.28-7.36 (m, 5H), 7.77 (s, 1H), 8.19 (s, 1H). МС М+Н розрах. 395.18; експер. 395.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркого смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.04 мкМ.

Приклад 10-91a: 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



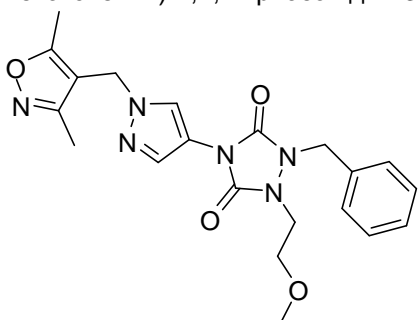
[0597] 1-Бензил-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)гідразинкарбоксамід (2.00 г, 5.88 ммоль), етилхлорформіат (6.38 г, 58.77 ммоль) і триетиламін (1.78 г, 17.63 ммоль) в ацетонітрilі (50 мл) нагрівали при 100 °С протягом 48 годин. Суміш охолоджували до 80 °С, додавали 1 М NaOH (вод.) (5 мл) і перемішували реакційну суміш протягом 1 години. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й концентрували на роторному випарнику. Залишок розчиняли в дихлорметані та фільтрували для видалення солей, і розчин концентрували з одержанням 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (1.28 г, 60 %) у виді жовтої олії. МС М+Н розрах. 367.14; експер. 367.2.

Приклад 10-91b: 1-бензил-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)гідразинкарбоксамід



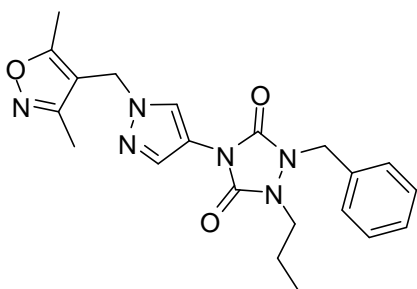
[0598] 1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-карбонілазид (2.79 г, 11.33 ммоль) у толуолі (70 мл) нагрівали при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 4 годин з одержанням 4-((4-ізоціанато-1H-піразол-1-іл)метил)-3,5-диметилізоксазолу in situ. До суміші додавали бензилгідразину дигідрохлорид (2.44 г, 12.45 ммоль) і триетиламін (2.29 г, 22.64 ммоль). Суміш нагрівали при 100 °С протягом додаткових 4 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (150 мл) і фільтрували через целіт. Потім маточний розчин промивали сольовим розчином (150 мл) і органічну фазу сушили над сульфатом магнію, фільтрували й концентрували. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (100 % - 90 % дихлорметану в метанолі: 30 хвилинний градієнт) з одержанням 1-бензил-N-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)гідразинкарбоксаміду (2.00 г, 52 %) у виді олії. МС М+Н розрах. 341.16; експер. 341.2.

Приклад 10-92: 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(2-метоксиетил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



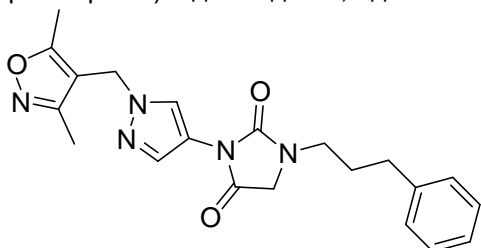
[0599] Одержували як у прикладі 10-91 з 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-91a) і 2-брометилметилового ефіру. Вихід: 20 %. МС М+Н розрах. 425.19; експер. 425.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC50 0.06 мкМ.

Приклад 10-93: 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-пропіл-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



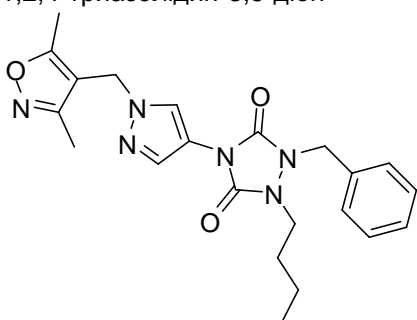
[0600] Одержували як у прикладі 10-91 з 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-91a) і 1-бромпропану. Вихід: 38 %. МС М+Н розрах. 409.19; експер. 409.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.06 мкМ.

Приклад 10-94: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-фенілпропіл)імідазолідин-2,4-діон.



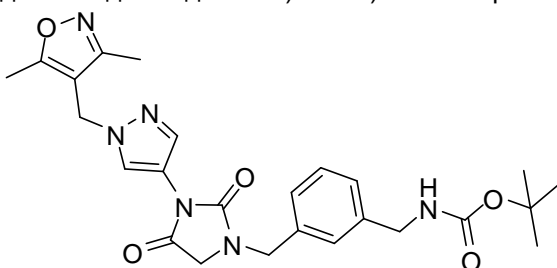
[0601] Одержували як у прикладі 10-52 з 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діону (приклад 10-1) і (3-бромпропіл)бензолу. Вихід: 36 %. МС М+Н розрах. 394.2; експер. 394.2. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.26 мкМ.

Приклад 10-95: 1-бензил-2-бутил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон



[0602] Одержували як у прикладі 10-91 з 1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діону (приклад 10-91a) і 1-бромбутану. Вихід: 22 %. МС М+Н розрах. 423.21; експер. 423.15. Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркового смаку hT2R08 і має IC_{50} 0.41 мкМ.

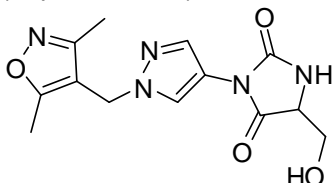
Приклад 10-96: трет-бутил 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензилкарбамат



[0603] 3-(1-((3,5-Диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон (приклад 10-1) (0.70 мг, 0.254 ммоль), трет-бутил 3-(гідроксиметил)бензилкарбамат (0.254 ммоль, 60 мг), діетилазодикарбоксилат (0.50 ммоль, 86 мг) і Р-tBu3 (125 мл, 0.50 ммоль) перемішували в ТГФ (1 мл) протягом 4 годин. Реакційну суміш розбавляли етилацетатом (1.5 мл) і промивали насиченим розчином бікарбонату натрію (2х, 1.5 мл). Збирали органічну фазу й концентрували суміш у потоці азоту. Неочищений продукт очищали методом колонкової хроматографії на

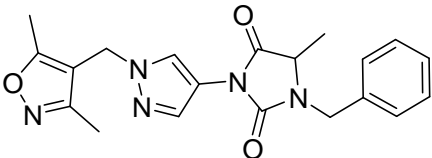
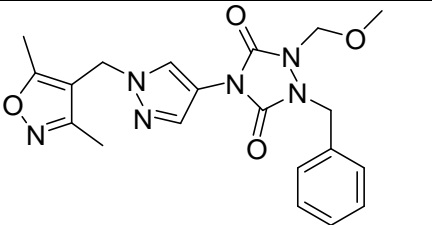
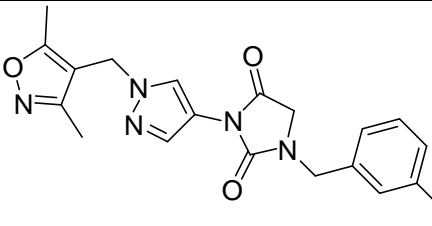
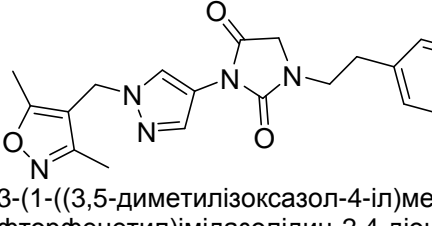
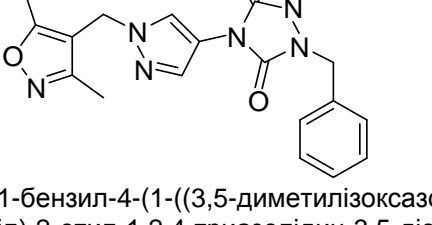
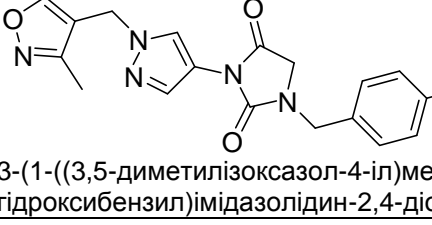
силікагелі, застосовуючи етилацетат як елюент. Чисті фракції поєднували й видаляли розчинники на роторному випарнику з одержанням трет-бутил-3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензилкарбамату у виді білої твердої речовини (112 мг, 90 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ 1.44 (s, 9H), 2.19 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.48 (bs, 1H), 3.84 (s, 2H), 4.31-4.30 (d, J=6 Гц, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.87 (bs, 1H), 5.06 (s, 2H), 7.36 – 7.16 (m, 4H), 7.92 (s, 1 H), 8.08 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 0.90 мкМ.

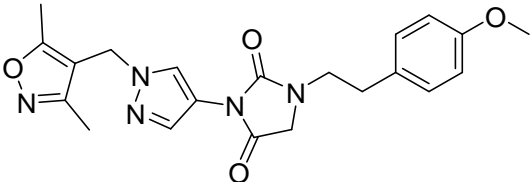
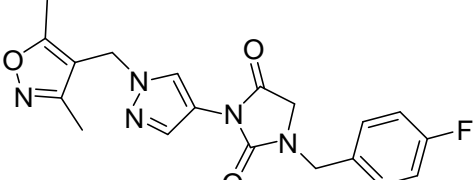
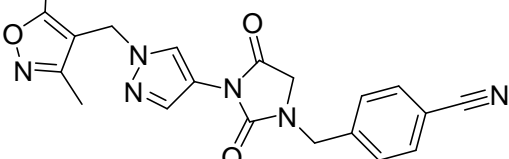
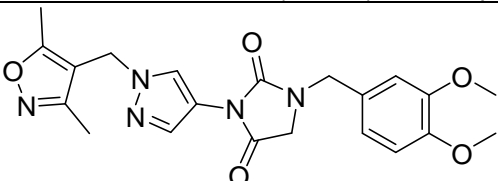
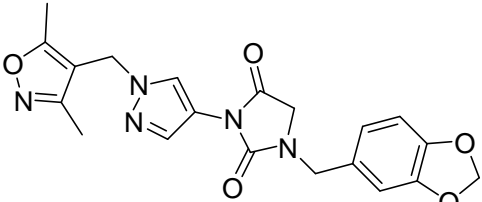
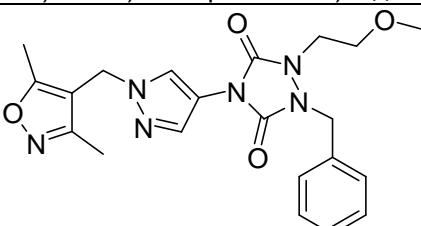
Приклад 10-97: 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(гідроксиметил)імідазолідин-2,4-діон

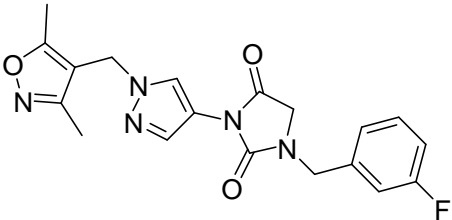
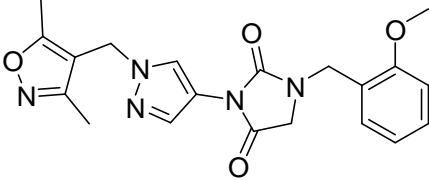
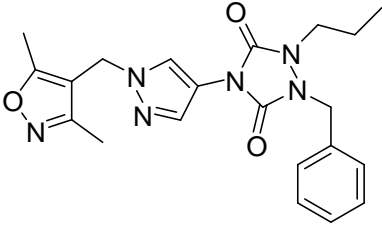
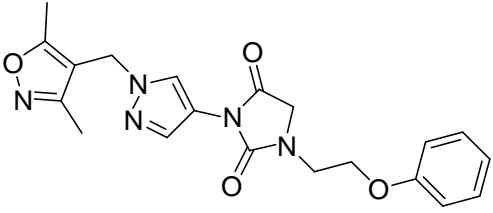
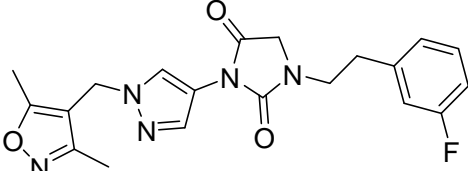
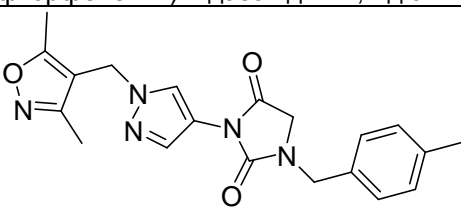


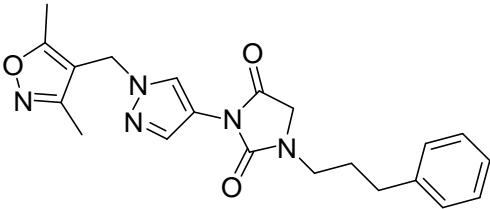
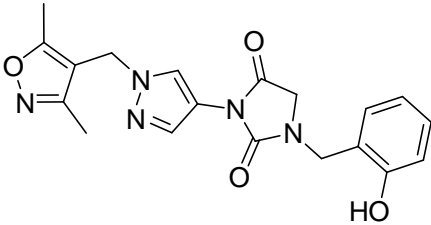
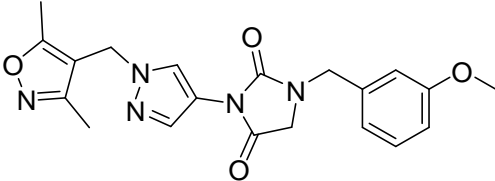
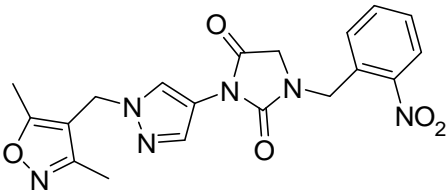
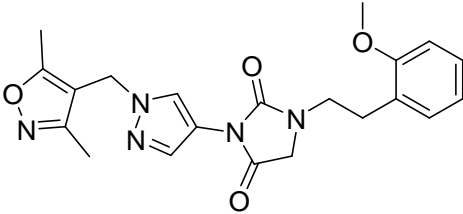
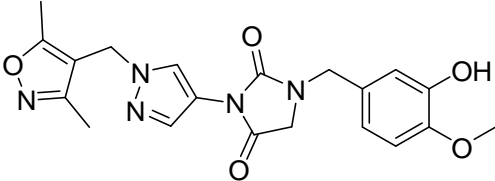
[00604] 4-((4-Ізоціанат-1H-піразол-1-іл)метил)-3,5-диметилізоксазол (приклад 10-1) (784 мг, 3.6 ммоль), гідрохлорид метилового ефіру серину (672 мг, 4.32 ммоль) і триетиламін (1 мл, 7.2 ммоль) кип'ятили зі зворотним холодильником у толуолі (16 мл) протягом 8 годин. Реакційну суміш залишали охолоджуватися до кімнатної температури, і потім розчин концентрували на роторному випарнику. Продукт очищали методом зворотно-фазової ВЕРХ (5-95 % ацетонітрил в H₂O: 16 хвилинний градієнт) з одержанням 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(гідроксиметил)імідазолідин-2,4-діону у виді білої твердої речовини (60 мг, 25 %). ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): (δ 1.44 (s, 9H), 2.40 (s, 3H), 3.13-3.07 (m, 1H), 3.94-3.93 (d, J=4 Гц, 2H), 4.21-4.19 (t, J=4 Гц, 1H), 5.03 (s, 2H), 6.68 (bs, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.99 (s, 1H). Як було показано, вищезгадану сполуку інгібує рецептор гіркої смаку hT2R08 і має IC₅₀ 3 мкМ.

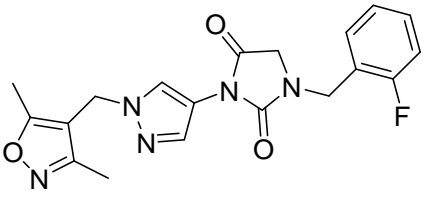
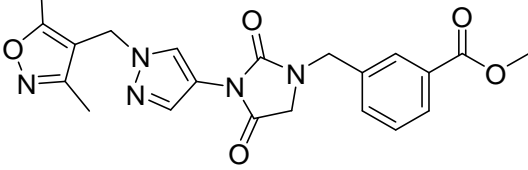
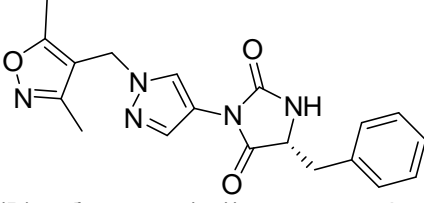
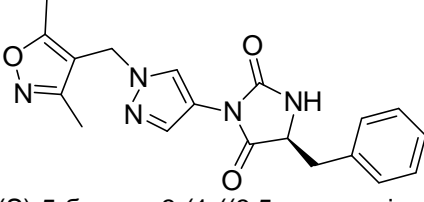
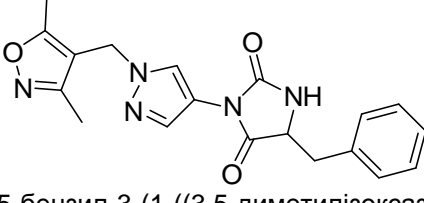
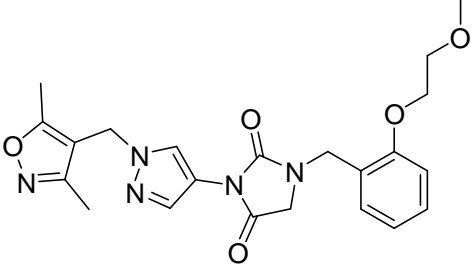
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-66	<p>4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-фторфенетил)-2-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	0.012
10-15	<p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(метилтіо)бензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.016
10-42	<p>5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.017
10-26	<p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.019

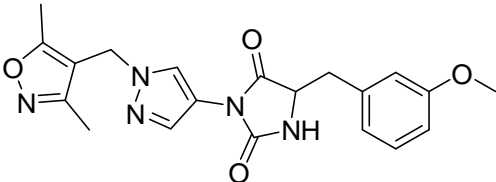
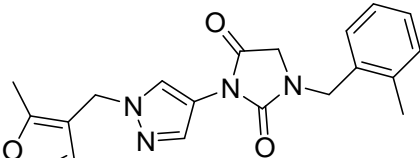
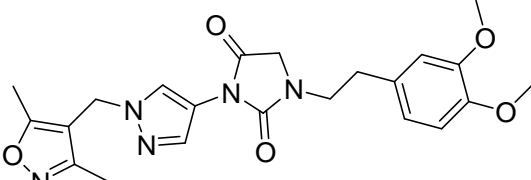
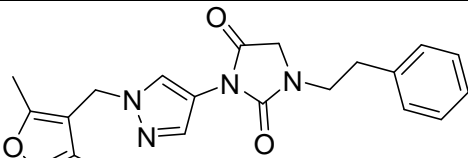
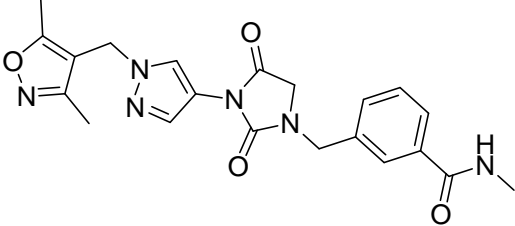
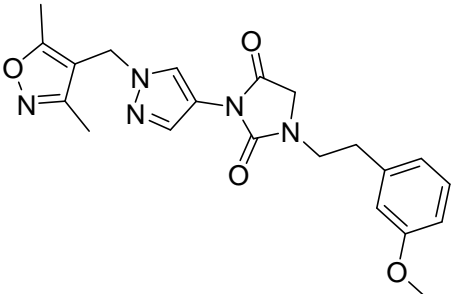
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-43	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.020
10-89	 <p>1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(метоксиметил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	0.024
10-10	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.026
10-84	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.027
10-91	 <p>1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-етил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	0.041
10-12	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.043

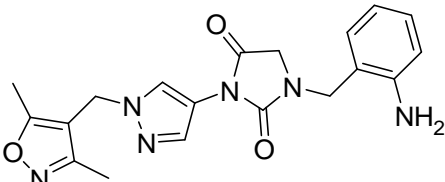
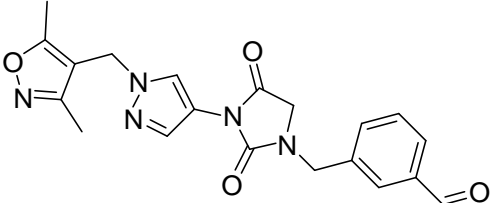
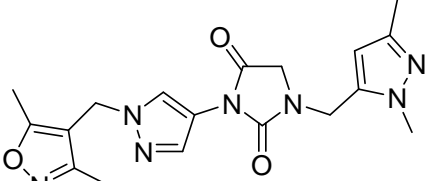
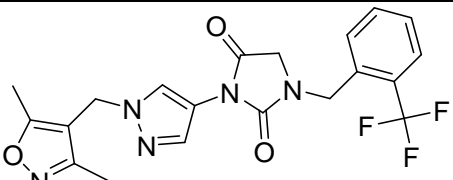
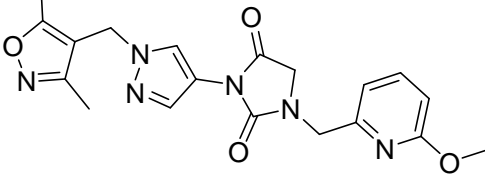
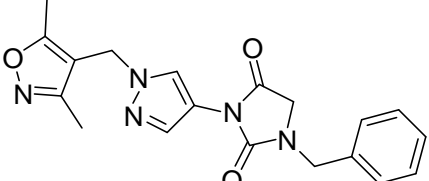
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-79	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.044
10-31	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.045
10-32	 <p>4-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітрил</p>	0.048
10-35	 <p>1-(3,4-диметоксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.051
10-36	 <p>1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-ілметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.053
10-92	 <p>1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-(2-метоксиетил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	0.057

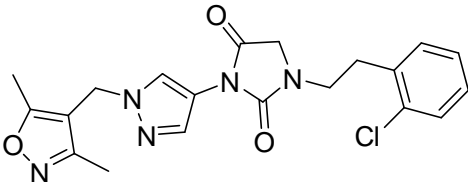
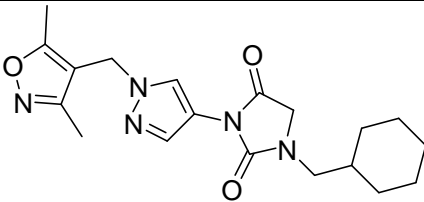
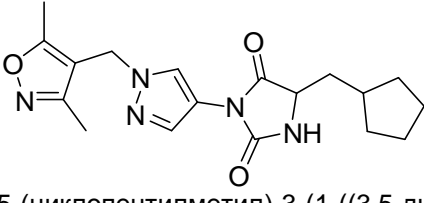
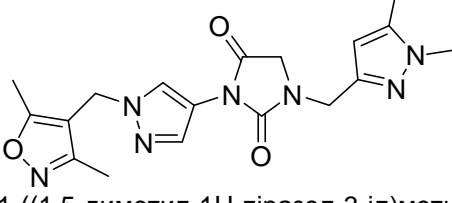
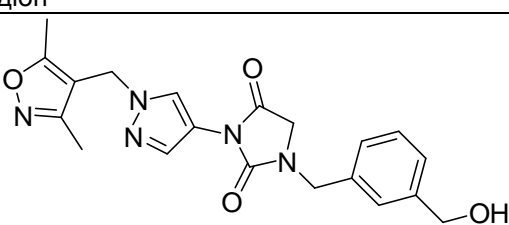
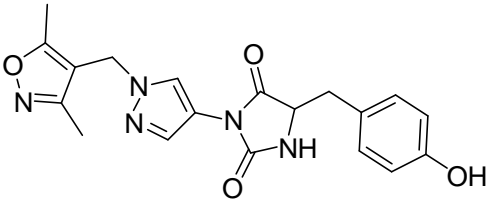
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-27	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.058
10-18	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.060
10-93	 <p>1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-пропіл-1,2,4-тріазолідин-3,5-діон</p>	0.062
10-5	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-феноксиетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.063
10-77	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.064
10-30	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.065

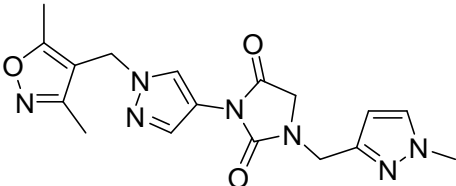
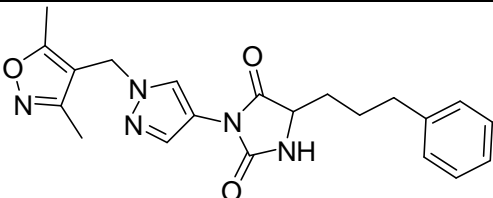
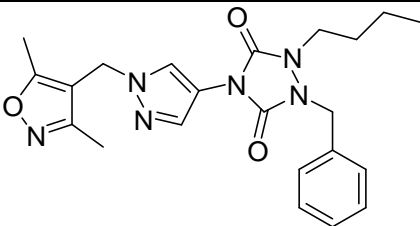
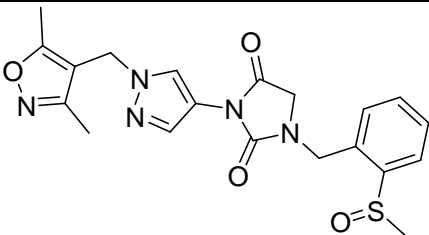
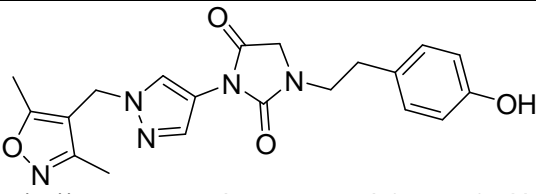
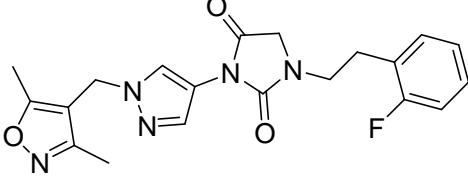
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-94	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-фенілпропіл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.068
10-11	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.069
10-6	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.073
10-23	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-нітробензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.081
10-76	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.097
10-13	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-гідрокси-4-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.087

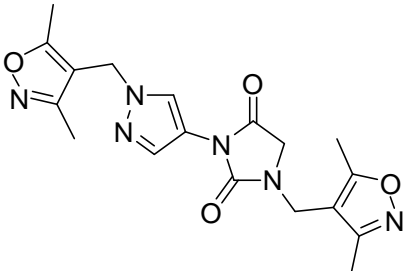
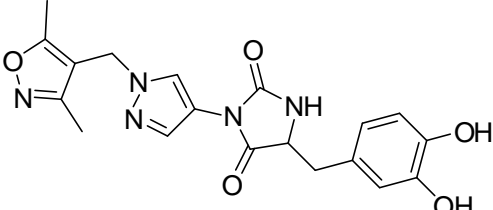
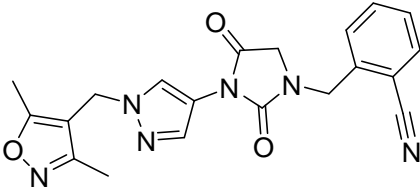
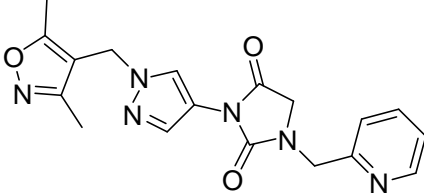
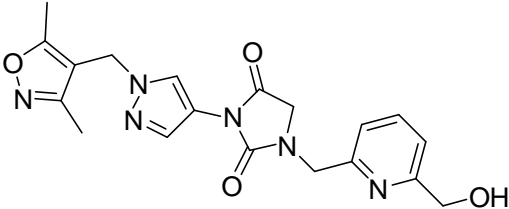
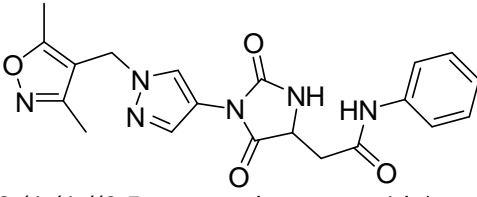
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-21	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-фторбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.090
10-7	 <p>метил 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензоат</p>	0.102
10-4	 <p>(R)-5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.112
10-3	 <p>(S)-5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.113
10-2	 <p>5-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.117
10-16	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(2-метоксиетокси)бензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.131

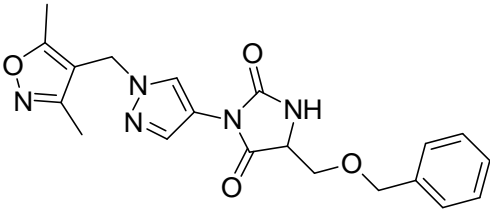
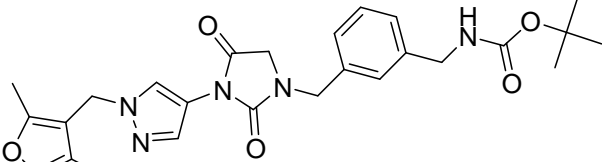
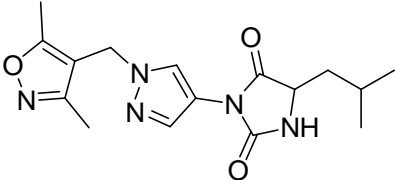
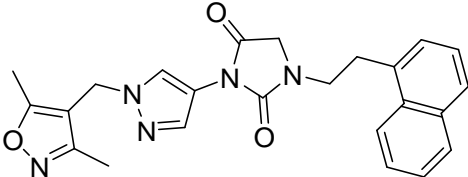
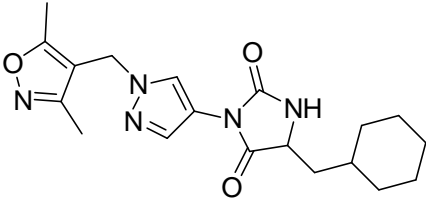
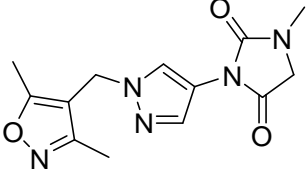
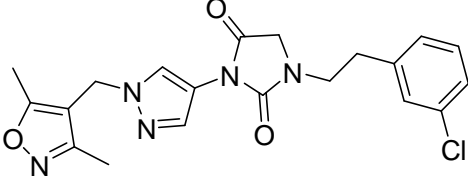
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-56	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(3-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.131
10-20	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-метилбензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.133
10-87	 <p>1-(3,4-диметоксифенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.137
10-78	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-фенетилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.139
10-9	 <p>3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)-N-метилбензамід</p>	0.141
10-85	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-метоксифенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.158

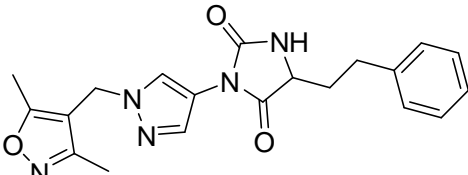
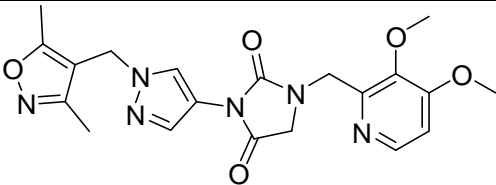
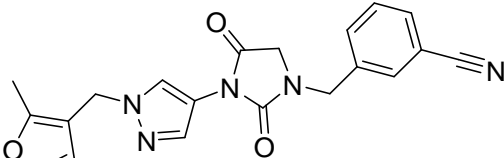
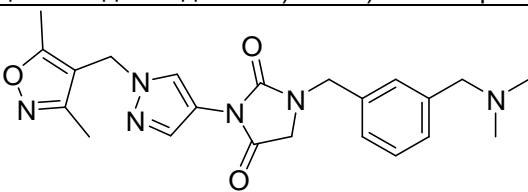
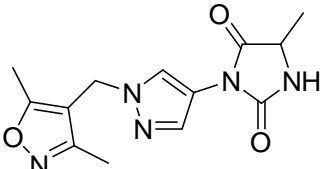
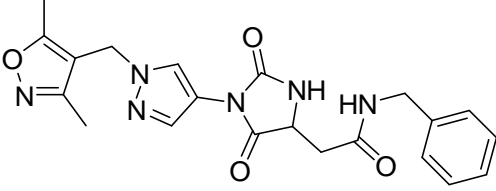
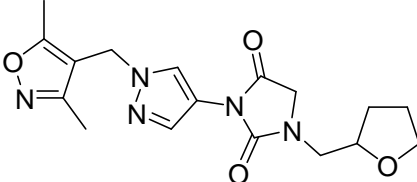
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-34	 <p>1-(2-амінобензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.163
10-24	 <p>3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензальдегід</p>	0.201
10-90	 <p>1-((1,3-диметил-1H-піразол-5-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.215
10-22	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(трифторметил)бензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.221
10-75	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((6-метоксипіридин-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.229
10-53	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.257

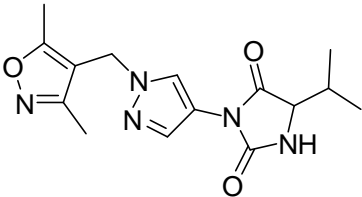
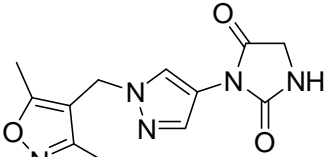
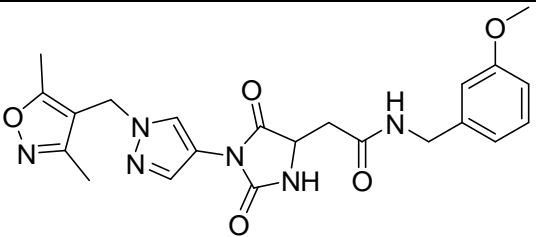
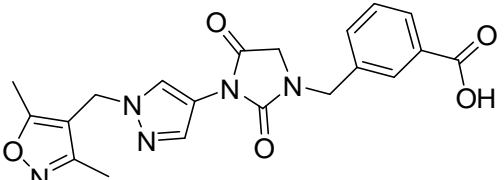
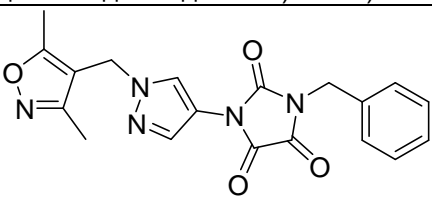
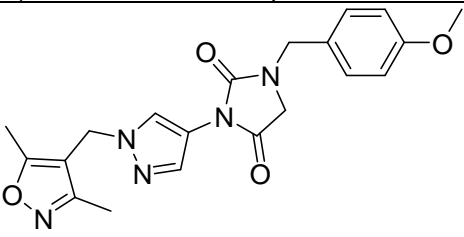
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-81	 <p>1-(2-хлорфенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.248
10-74	 <p>1-(циклогексилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.276
10-58	 <p>5-(циклопентилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.316
10-28	 <p>1-((1,5-диметил-1Н-піразол-3-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.322
10-33	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-1-(3-(гідроксиметил)бензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.322
10-59	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1Н-піразол-4-іл)-5-(4-гідроксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.327

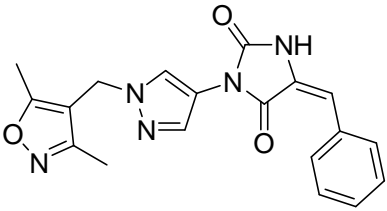
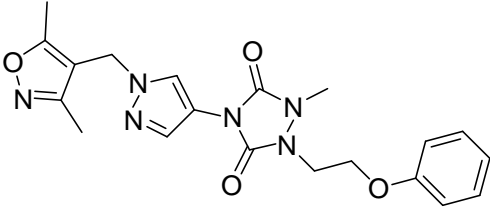
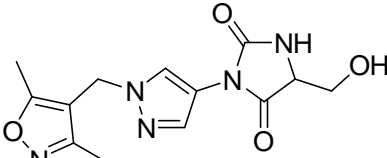
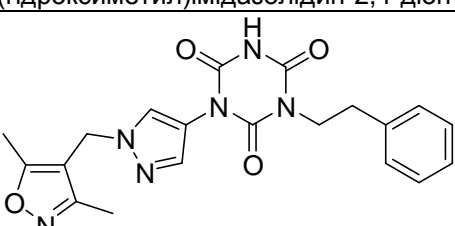
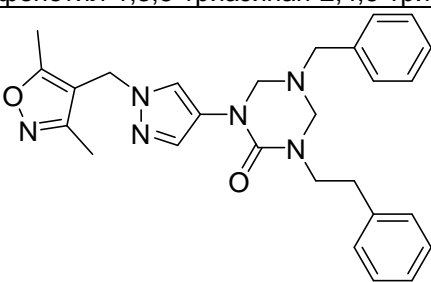
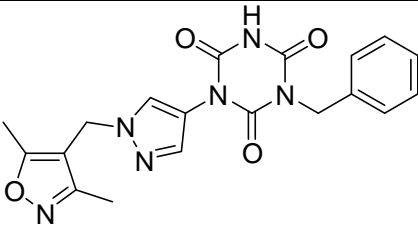
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-38	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((1-метил-1H-піразол-3-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.363
10-46	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(3-фенілпропіл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.484
10-95	 <p>1-бензил-2-бутил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-тріазолідин-3,5-діон</p>	0.409
10-17	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(метилсульфініл)бензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.412
10-86	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-гідроксифенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.412
10-83	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-фторфенетил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.442

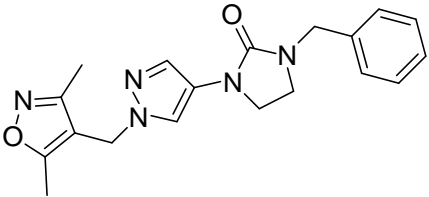
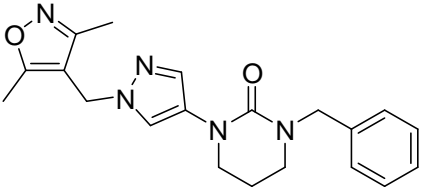
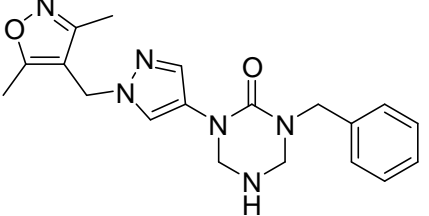
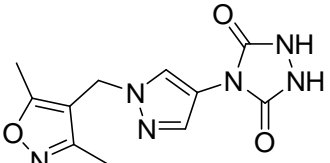
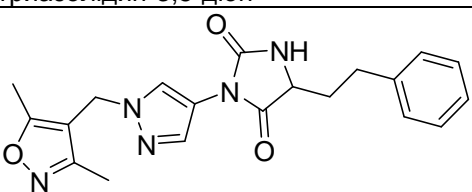
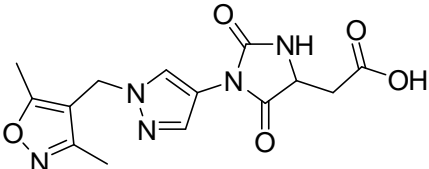
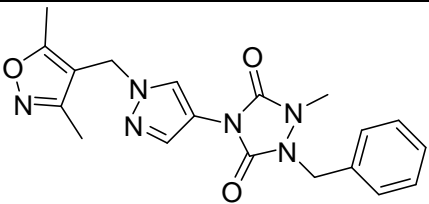
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-55	 <p>1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.479
10-60	 <p>5-(3,4-дигідроксибензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.513
10-19	 <p>2-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітрил</p>	0.550
10-54	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(піридин-2-ілметил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.609
10-71	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((6-(гідроксиметил)піридин-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.721
10-48	 <p>2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)-N-фенілацетамід</p>	0.747

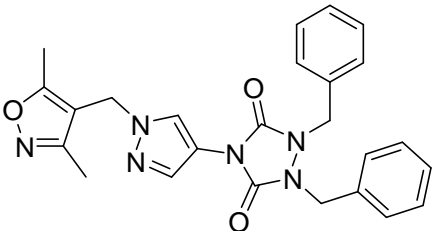
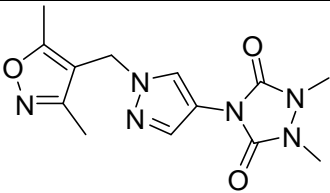
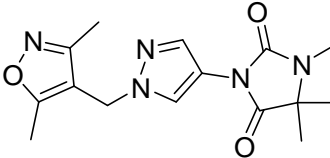
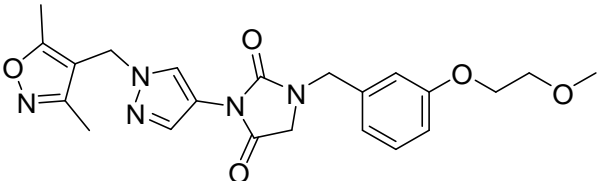
№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-47	 <p>5-(бензилоксиметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.766
10-96	 <p>трет-бутил 3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензилкарбамат</p>	0.891
10-61	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-ізобутилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.912
10-80	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(2-(нафталін-1-іл)етил)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.927
10-57	 <p>5-(циклогексилметил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.962
10-51	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.966
10-82	 <p>1-(3-хлорфенетил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.982

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-45	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-фенетилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.793
10-72	 <p>1-((3,4-диметоксипіридин-2-іл)метил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	0.999
10-25	 <p>3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензонітрил</p>	1.003
10-37	 <p>1-(3-((диметиламіно)метил)бензил)-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	1.220
10-41	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-метилімідазолідин-2,4-діон</p>	1.285
10-49	 <p>N-бензил-2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)ацетамід</p>	1.329
10-73	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-((тетрагідрофуран-2-іл)метил)імідазолідин-2,4-діон</p>	1.362

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-62	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-ізопропілімідазолідин-2,4-діон</p>	1.440
10-1	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	1.696
10-50	 <p>2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)-N-(3-метоксибензил)ацетамід</p>	1.773
10-8	 <p>3-((3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,4-діоксоімідазолідин-1-іл)метил)бензойна кислота</p>	1.798
9-5	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4,5-трион</p>	2.493
10-29	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(4-метоксибензил)імідазолідин-2,4-діон</p>	3.117

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-63	 <p>(E)-5-бензиліден-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2,4-діон</p>	
10-67	 <p>4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-метил-2-(2-феноксиетил)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	
10-97	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-(гідроксиметил)імідазолідин-2,4-діон</p>	
9-8	 <p>1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенетил-1,3,5-триазинан-2,4,6-трион</p>	6.151
9-7	 <p>5-бензил-1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-3-фенетил-1,3,5-триазинан-2-он</p>	6.580
9-9	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2,4,6-трион</p>	1.562

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-88	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)імідазолідин-2-он</p>	1.250
9-5	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)тетрагідропіримідин-2(1H)-он</p>	3.434
9-6	 <p>1-бензил-3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,3,5-триазинан-2-он</p>	6.029
10-68	 <p>4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	
10-45	 <p>3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-5-фенетилімідазолідин-2,4-діон</p>	0.793
10-44	 <p>2-(1-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл)оцтова кислота</p>	
10-65	 <p>1-бензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-2-метил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон</p>	0.019

№ сполуки	Сполука	hT2R8 IC ₅₀ (мкМ)
10-70	 1,2-добензил-4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2,4-триазолідин-3,5-діон	1.799
10-69	 4-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,2-диметил-1,2,4-триазолідин-3,5-діон	0.707
10-52	 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1,5,5-триметилімідазолідин-2,4-діон	0.810
10-14	 3-(1-((3,5-диметилізоксазол-4-іл)метил)-1H-піразол-4-іл)-1-(3-(2-метоксиетокси)бензил)імідазолідин-2,4-діон	0.071

Приклад 11. Внесок hT2R8 у гіркий смак сахарину в людей з "нечутливими до смаку" варіантами генів hT2R43 й hT2R44

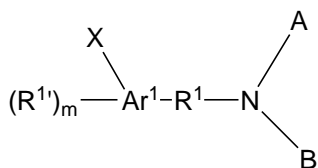
На фіг. 6 показані залежності доза-відповідь і вплив сахарину на активність рецепторів у трансфекованих клітинах, що експресують варіанти hT2R43, hT2R44 й hT2R8. hT2R8 є менш чутливим стосовно сахарину в аналізі *in vitro*, ніж "чутливі до смаку" алелі hT2R43-W35 й hT2R44-W35, але реагує краще, ніж "нечутливі до смаку" алелі hT2R43-S35 й hT2R44-R35. Pronin et al., Curr. Biol. 17: 1403–8 (2007). На основі генотипічного аналізу були обрані п'ять випробовуваних з "чутливими до смаку" алелями (hT2R43-W35 та/або hT2R44-W35) і п'ять випробовуваних з "нечутливими до смаку" алелями (hT2R43-S35 й hT2R44-R35). Кожному суб'єктові давали 6 пар розчинів і просили визначити, які з проб в парі мають більш гіркий смак. Результати, показані нижче в таблиці 8, свідчать, що блокатор hT2R8 Cpd-D зменшує гіркий смак сахарину в людей з "нечутливими до смаку" алелями hT2R43 й hT2R44, але не здійснює вплив на людей з "чутливими до смаку" алелями зазначених генів.

Таблиця 8: Результати тесту на смак

Тест на смак	Агоніст гіркого смаку	Група генотипу	Обрані як більш гіркі		Значення Р
			без	+ Cpd-D	
1	сахарин	hT2R43-W35 та/або hT2R44-W35	13	17	0.82
2	сахарин	hT2R43-S35 й hT2R44-R35	27	3	<0.001

[0605] Інші типові сполуки, запропоновані в даному винаході та/або підходящі для застосування в способах згідно із даним винаходом, включають сполуки, що мають наступні формули.

5 [0606] Відповідно до першого аспекту, запропонована сполука структурної формули (I):



(I)

або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки, де:

Ar^1 являє собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце; m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

10 R^1 являє собою SO_2 ; $\text{C}=\text{O}$; $\text{C}=\text{S}$; або $\text{C}=\text{NOR}^4$;

X обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(\text{=NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

15 кожен R^1 незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(\text{=NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

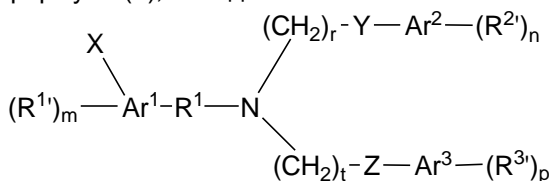
20 або, альтернативним чином, X та/або щонайменше один R^1 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють арильне, заміщене арильне, гетероарильне, заміщене гетероарильне, циклоалкільне, заміщене циклоалкільне, циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце, при цьому кільце можливо є сконденсованим із ще одним арильним, заміщеним арильним, гетероарильним, заміщеним гетероарильним, циклоалкільним, заміщеним циклоалкільним, циклогетероалкільним або заміщеним циклогетероалкільним кільцем;

30 R^4 - R^8 незалежно обрані із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл і заміщений гетероарилалкіл, або, альтернативним чином, R^5 й R^6 , R^6 й R^7 , R^7 й R^8 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

35 A і B незалежно обрані із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, і

b дорівнює 0, 1 або 2;

40 [0607] Відповідно до другого аспекту, у винаході запропоновані сполуки структурної формули (II), наведеної нижче:



(II)

або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук, де:

45 Ar^1 , Ar^2 і Ar^3 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце;

m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

r і t незалежно дорівнюють 0, 1 або 2;

Y і Z незалежно обрані із групи, що включає CR^6R^7 , $C=O$, $C=S$, $C=NOR^6$, O , NR^6 і $S(O)_b$;

R^1 обраний із групи, що включає SO_2 , $C=O$, $C=S$ й $C=NOR^4$;

5 X можна вибрати із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , $-OR^6$, $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

10 X переважно обраний із групи, що включає водень, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , $S(O)_bR^6$, $CONR^6R^7$, $-CO_2R^6$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$.

15 кожен $R^{1'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

20 кожен $R^{2'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(OR^5)(OR^6)$;

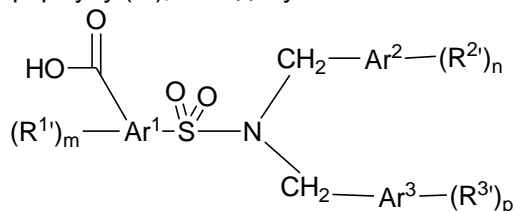
25 кожен $R^{3'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

30 або, альтернативним чином, X та/або щонайменше один з $R^{1'}$ разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють арильне, заміщене арильне, гетероарильне, заміщене гетероарильне, циклоалкільне, заміщене циклоалкільне, циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце, при цьому зазначене кільце може бути конденсоване із ще одним арильним, заміщеним арильним, гетероарильним, заміщеним гетероарильним, циклоалкільним, заміщеним циклоалкільним, циклогетероалкільним або заміщеним циклогетероалкільним кільцем;

40 R^4 - R^8 незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R^5 й R^6 , R^6 й R^7 , R^7 й R^8 разом із атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

45 b дорівнює 0, 1 або 2.

[0608] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропоновані сполуки, що мають структурну формулу (III), наведену нижче:



(III)

або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук, де:

50 Ar^1 , Ar^2 й Ar^3 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце, при цьому Ar^2 й Ar^3 можуть бути відсутніми;

m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен $R^{1'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

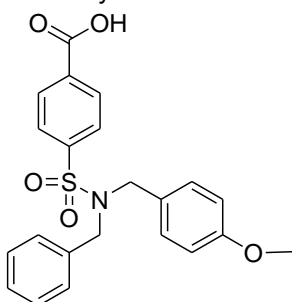
кожен $R^{2'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

кожен $R^{3'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

R^5 - R^8 незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R^5 й R^6 , R^6 й R^7 , R^7 й R^8 разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалکیلне або заміщене циклогетероалکیلне кільце;

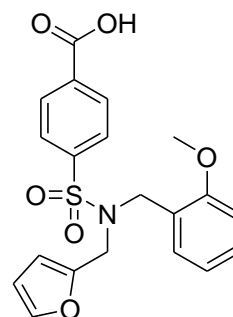
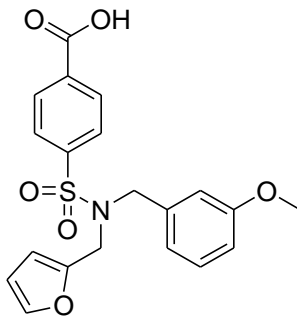
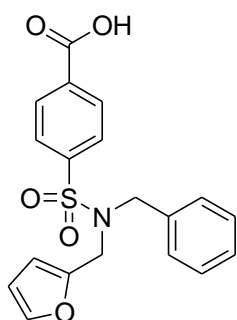
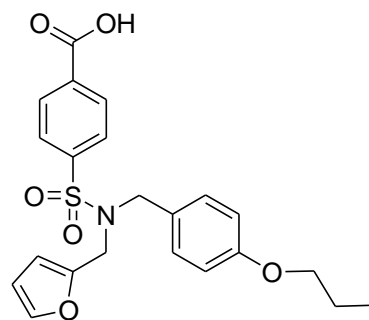
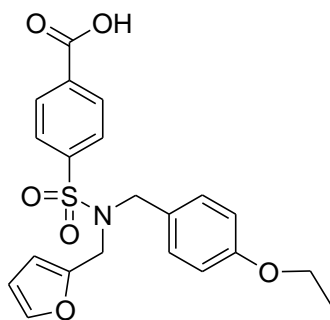
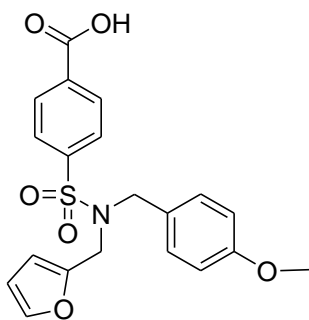
b дорівнює 0, 1 або 2.

[0609] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропонована сполука, що має структуру, представлену нижче:



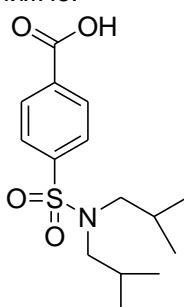
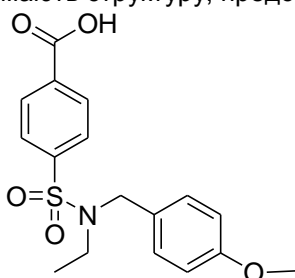
або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки.

[0610] Згідно ще одному аспекту, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук.

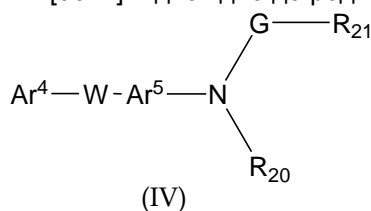
[0611] Відповідно до ще інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



5

або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук.

[0612] Відповідно до родинного аспекту, запропонована сполука структурної формули (IV):



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки, де:

10 Ar^4 і Ar^5 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне або гетероарильне кільце;

W обраний із групи, що включає CR^6R^7 , $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{S}$, $\text{C}=\text{NOR}^6$; O , NR^6 , S , SO , SO_2 і $(\text{CH}_2)_n$; n дорівнює 0, 1, 2 або 3;

G обраний із групи, що включає CR^6R^7 , $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{S}$, $\text{C}=\text{NOR}^6$ й $\text{S}(\text{O})_b$;

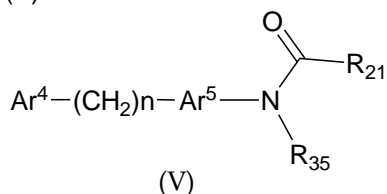
15 R^{20} обраний із групи, що включає водень, арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

R^{21} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

20 R^6 і R^7 незалежно обрані із групи, що включає водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл, або,

альтернативним чином, R^6 і R^7 разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце; і
b дорівнює 0, 1 або 2.

[0613] Згідно ще одному родинному аспекту, запропонована сполука структурної формули (V):



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки, де:

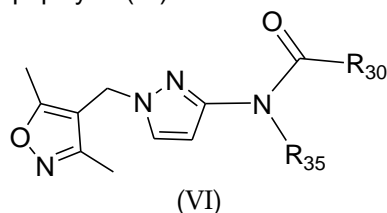
Ar^4 і Ar^5 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне або гетероарильне кільце;

n дорівнює 0, 1, 2 або 3;

R^{21} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

R^{35} обраний із групи, що включає водень, алкіл і заміщений алкіл.

[0614] Відповідно до додаткового варіанта реалізації винаходу, запропонована сполука структурної формули (VI)

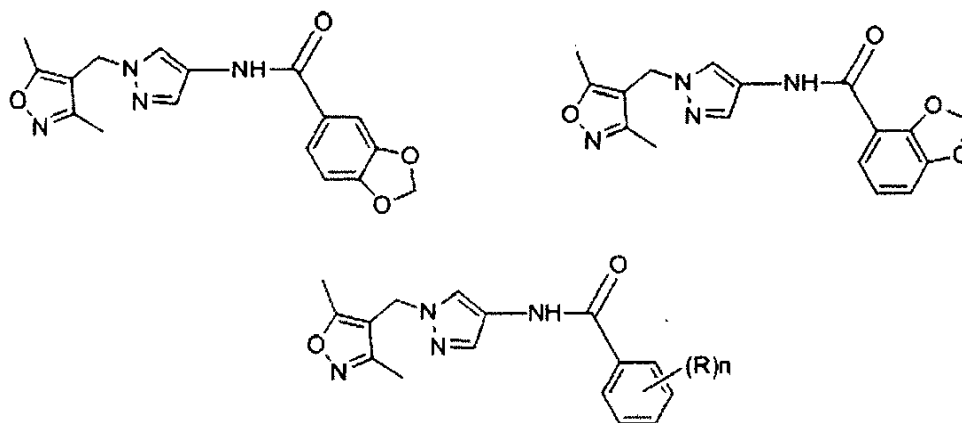


або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначеної сполуки, де:

R^{30} обраний із групи, що включає арилалкеніл, гетероарилалкеніл, арилалкіл, гетероарилалкіл, арил, гетероарил, алкіл, алкокси-алкіл, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл і заміщені похідні;

R^{35} обраний із групи, що включає водень, алкіл і заміщений алкіл.

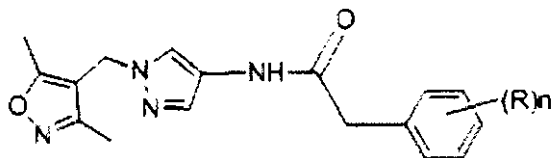
Відповідно до додаткового варіанта реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук,

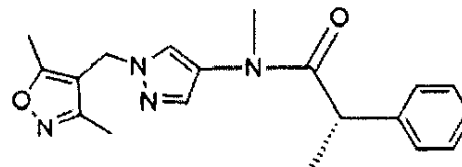
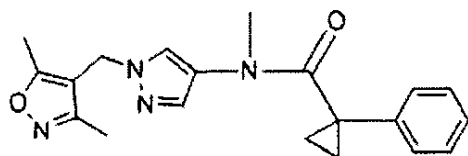
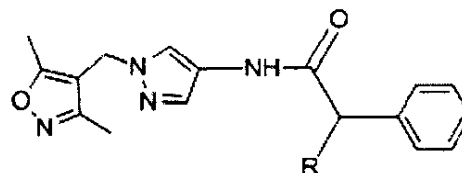
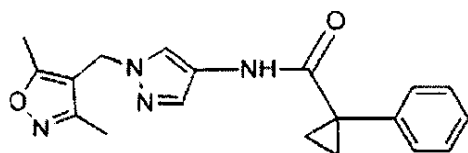
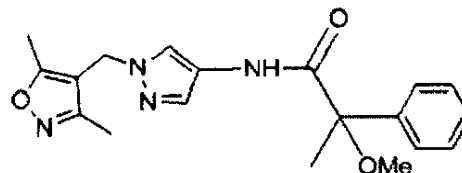
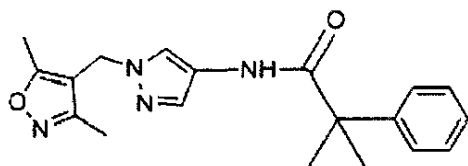
де кожен R незалежно являє собою Cl, MeO, CN, Et, OH, Me, $-\text{SO}_2\text{Me}$, F або H, і
n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

[0614] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



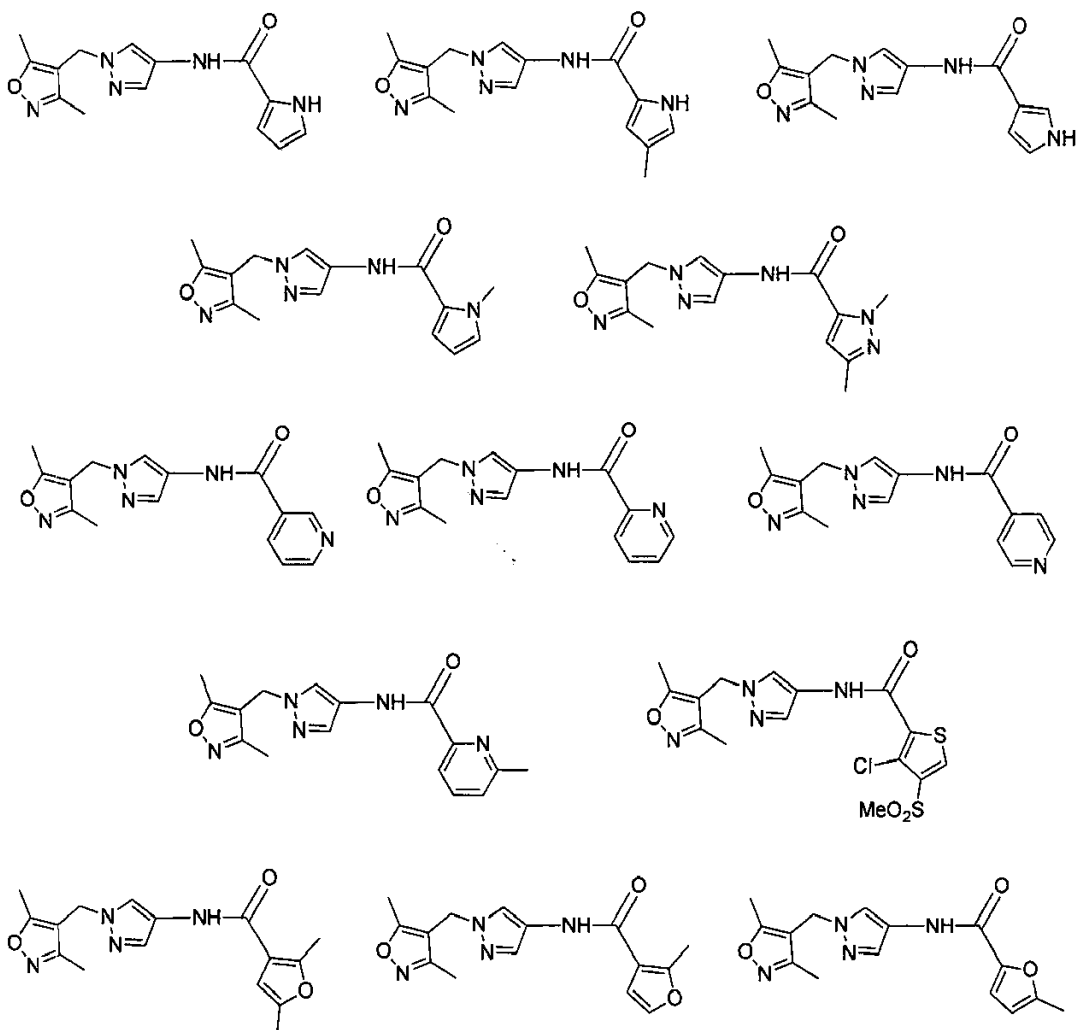
або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук,
де кожен R незалежно являє собою MeO або OH, і
n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

- 5 [0615] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



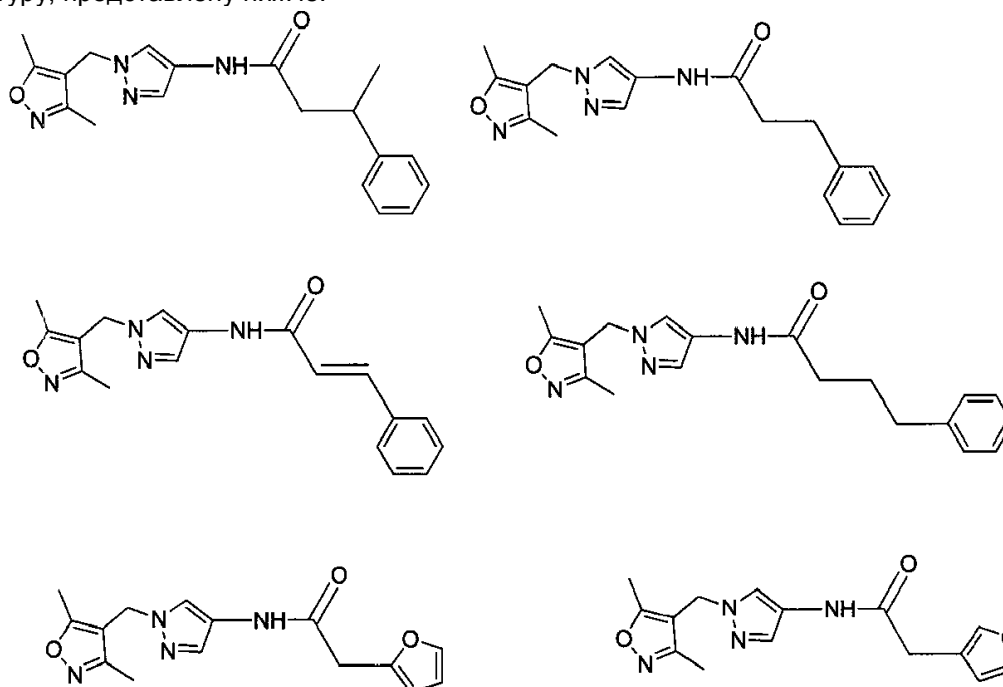
або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук,
де R являє собою H, Me, Et, OCOMe, CH₂OH, OMe або Ph.

- 10 [0616] Відповідно до наступних варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук.

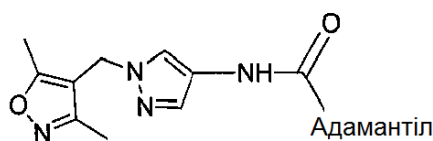
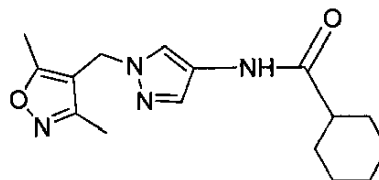
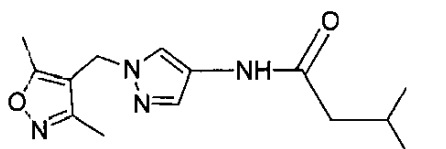
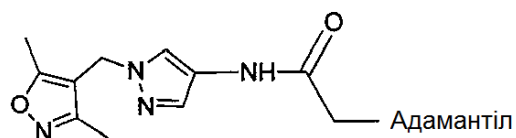
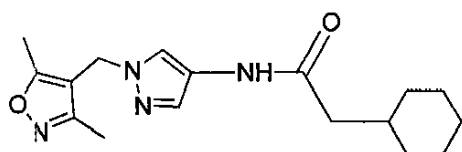
[0617] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



5

або сіль, гідрат, сольват або N-оксид зазначених сполук.

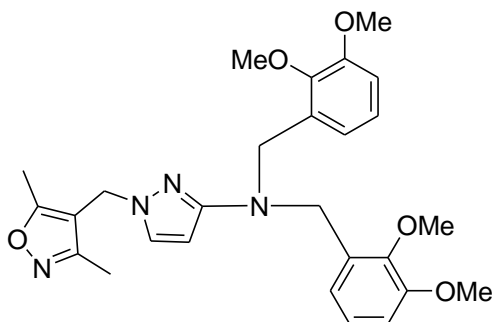
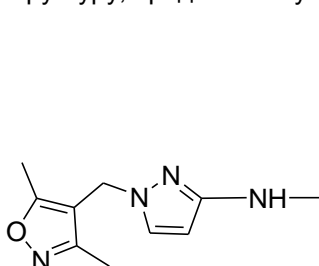
[0618] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



5

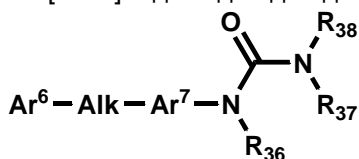
або сіль, гідрат, сольват або N- оксид зазначених сполук.

[0619] Відповідно до інших варіантів реалізації, у винаході запропоновані сполуки, що мають структуру, представлену нижче:



10

[0620] Відповідно до одного аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



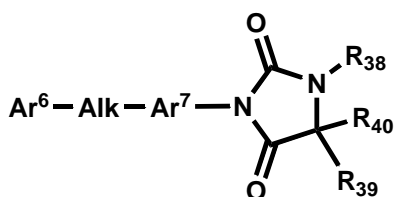
або солі, гідрату, сольовату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
де Ar^6 й Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою п'яти- або шестичленну арильну групу або п'яти- або шестичленну гетероарильну групу;
 Alk являє собою алکیلну групу, що можливо містить гетероатом;

R₃₆ і R₃₇, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H або алкіл, або R₃₆ і R₃₇ разом з атомами, до яких вони приєднані, утворюють можливо заміщений п'яти- або шестичленний гетероцикл; і

R₃₈ являє собою Н, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероаріламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл чи галоалкіл.

[0621] Відповідно до одного аспекту, сполуки, запропоновані у винаході, містять п'ятичленний гетероцикл. Відповідно до одного варіанта реалізації, п'ятичленний гетероцикл являє собою гідантоїн або заміщену або незаміщену циклічну сечовину.

[0622] Відповідно до одного варіанта реалізації, гідантоїн являє собою гідантоїн формули:



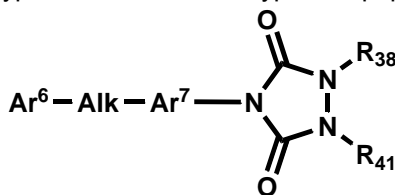
або сіль, гідрат, сольват, N-оксид або проліки зазначеної сполуки,
де Ar^6 й Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою п'яти- або шестичленну арильну групу або п'яти- чи шестичленну гетероарильну групу;

5 Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

R_{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл; і

R_{39} і R_{40} , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл алкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R_{39} й R_{40} разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють $C=O$ групу або заміщену або незаміщену алкенільну групу.

[0623] Згідно ще одному аспекту, сполуки, запропоновані у винаході, містять п'ятичленний гетероцикл який являє собою уразол. Відповідно до одного варіанта реалізації, зазначений уразол являє собою уразол формули:



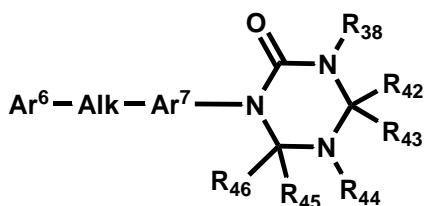
або сіль, гідрат, сольват, N-оксид або проліки зазначеної сполуки,
де Ar^6 і Ar^7 , які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою п'яти- чи шестичленну арильну групу або п'яти- чи шестичленну гетероарильну групу;

Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

R_{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл; і

R_{41} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл чи галоалкіл.

[0624] Згідно ще одному аспекту, сполуки, запропоновані у винаході, містять шестичленний гетероцикл. Відповідно до одного варіанта реалізації, шестичленний гетероцикл являє собою шестичленний гетероцикл формули:

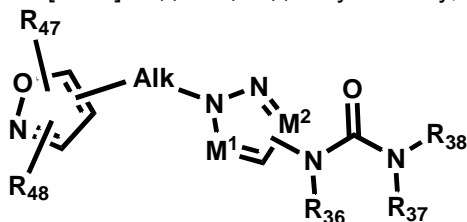


або сіль, гідрат, сольват, N-оксид або проліки зазначеної сполуки,

де R₃₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл чи галоалкіл; і

R₄₂, R₄₃, R₄₄, R₄₅ й R₄₆, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл алкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, або R₄₂ і R₄₃ або R₄₅ і R₄₆ разом з атомами вуглецю, до яких вони обидва приєднані, утворюють C=O групу.

[0625] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,

де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

M¹ являє собою N або CR₄₉, де R₄₉ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

M² являє собою N або CR₅₀, де R₅₀ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

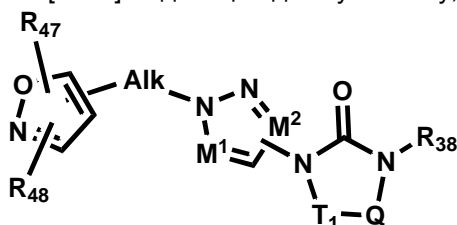
R₃₆ і R₃₇, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H або алкіл, або R₃₆ і R₃₇ разом з атомами, до яких вони приєднані, утворюють можливо заміщений п'яти- або шестичленний гетероцикл; і

R₃₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

R₄₇ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

R₄₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

[0626] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,

де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

T₁ являє собою C=O і Q являє собою CR₅₁R₅₂ або NR₅₁, де R₅₁ й R₅₂, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений

гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R_{51} і R_{52} разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють $C=O$ групу або заміщену або незаміщену алкенільну групу;

M^1 являє собою N або CR_{49} , де R_{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

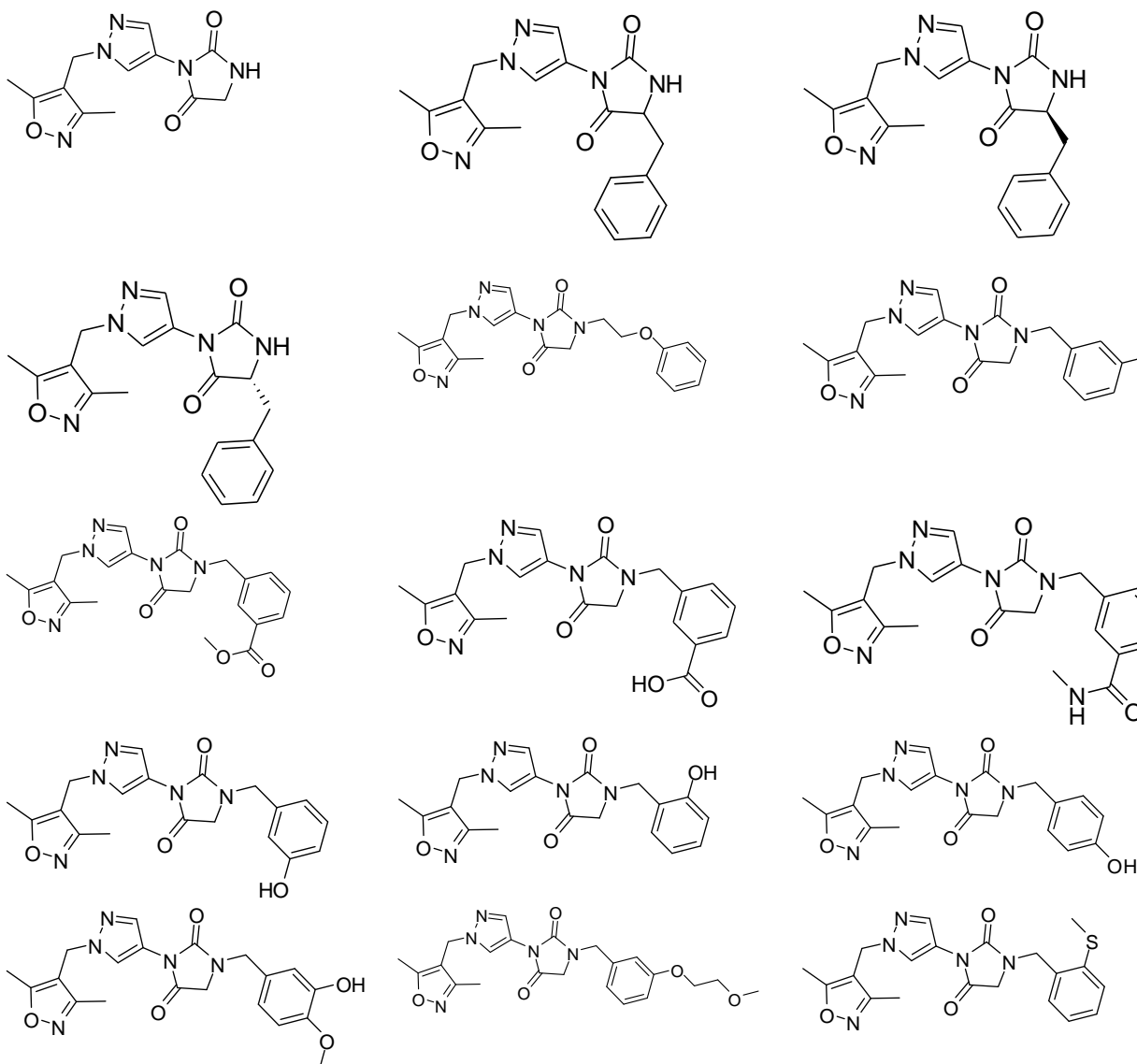
M^2 являє собою N або CR_{50} , де R_{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

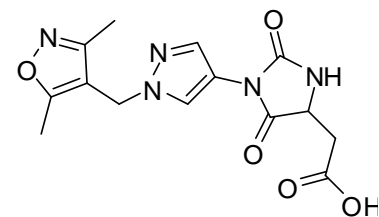
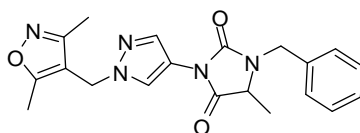
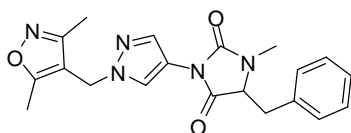
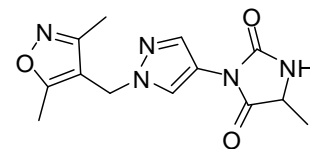
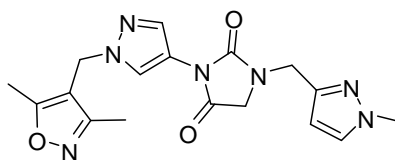
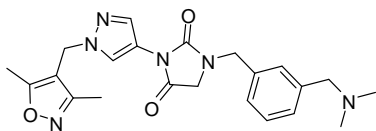
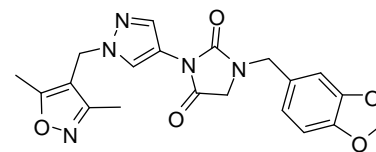
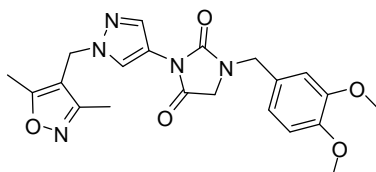
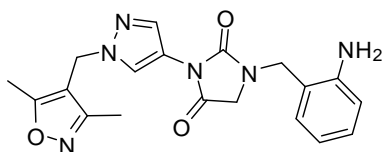
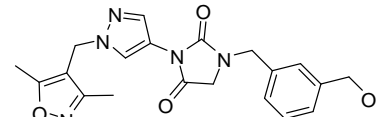
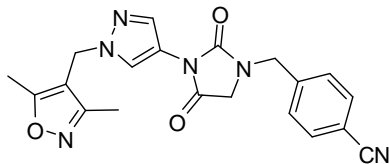
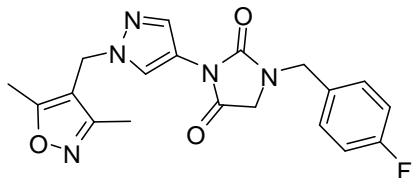
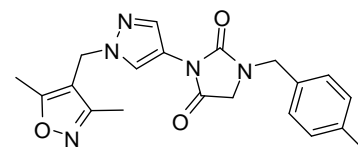
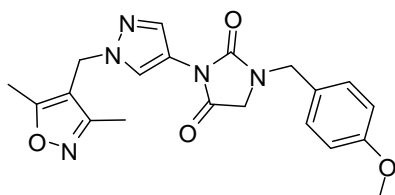
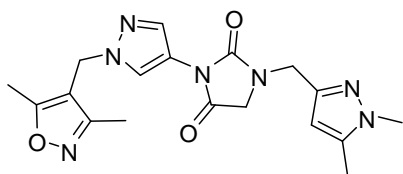
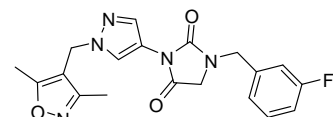
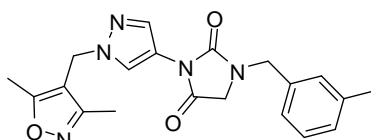
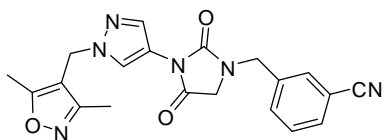
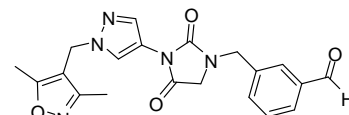
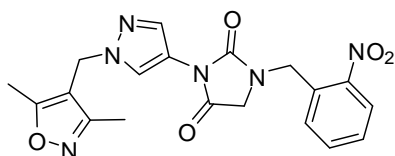
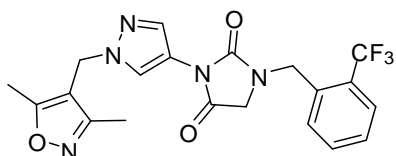
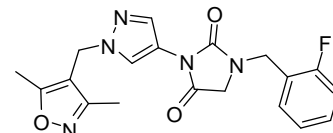
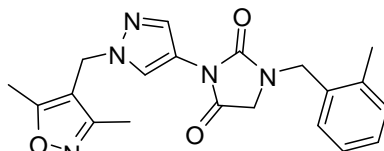
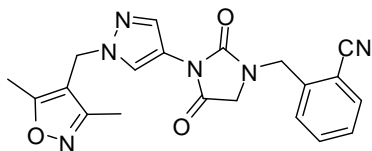
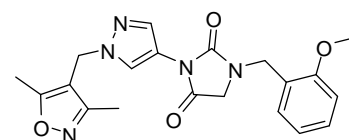
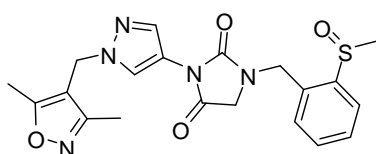
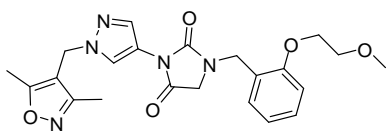
R_{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

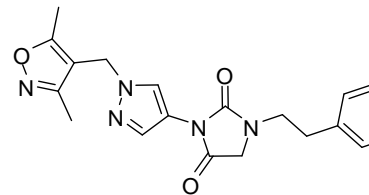
R_{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

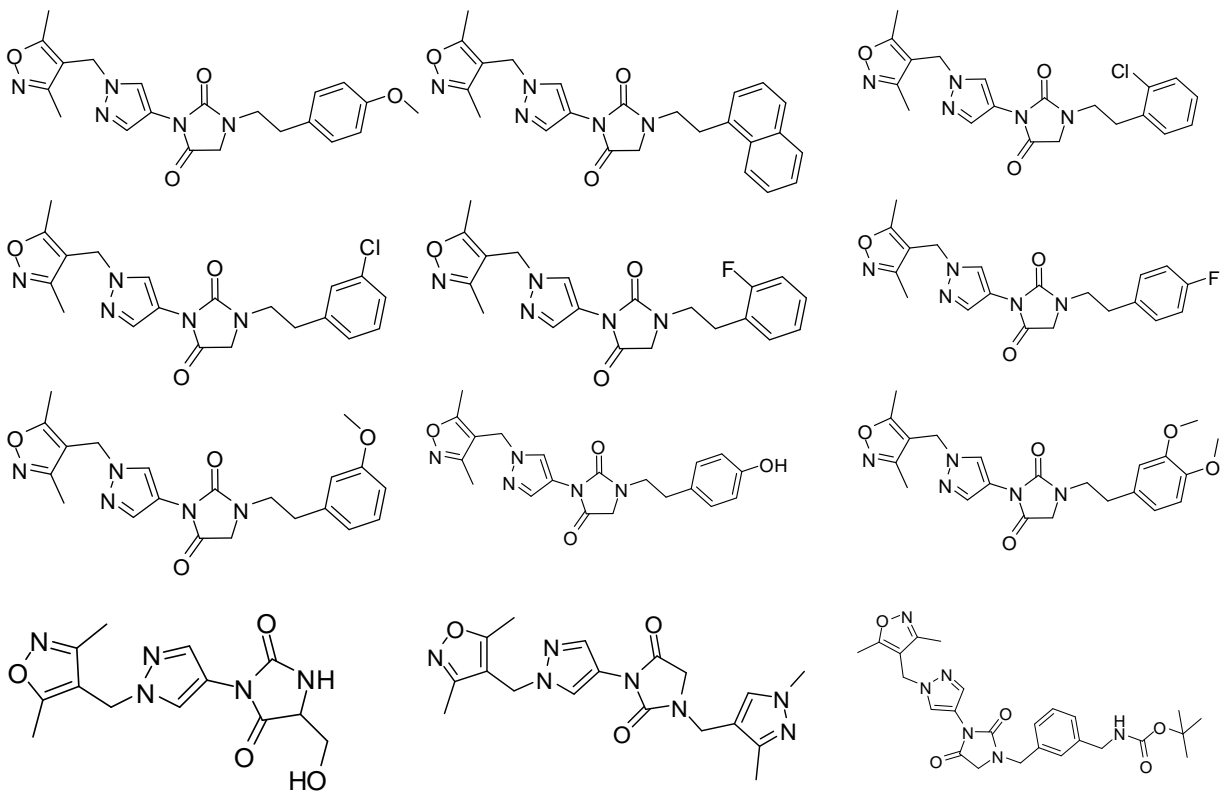
R_{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

[0627] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:



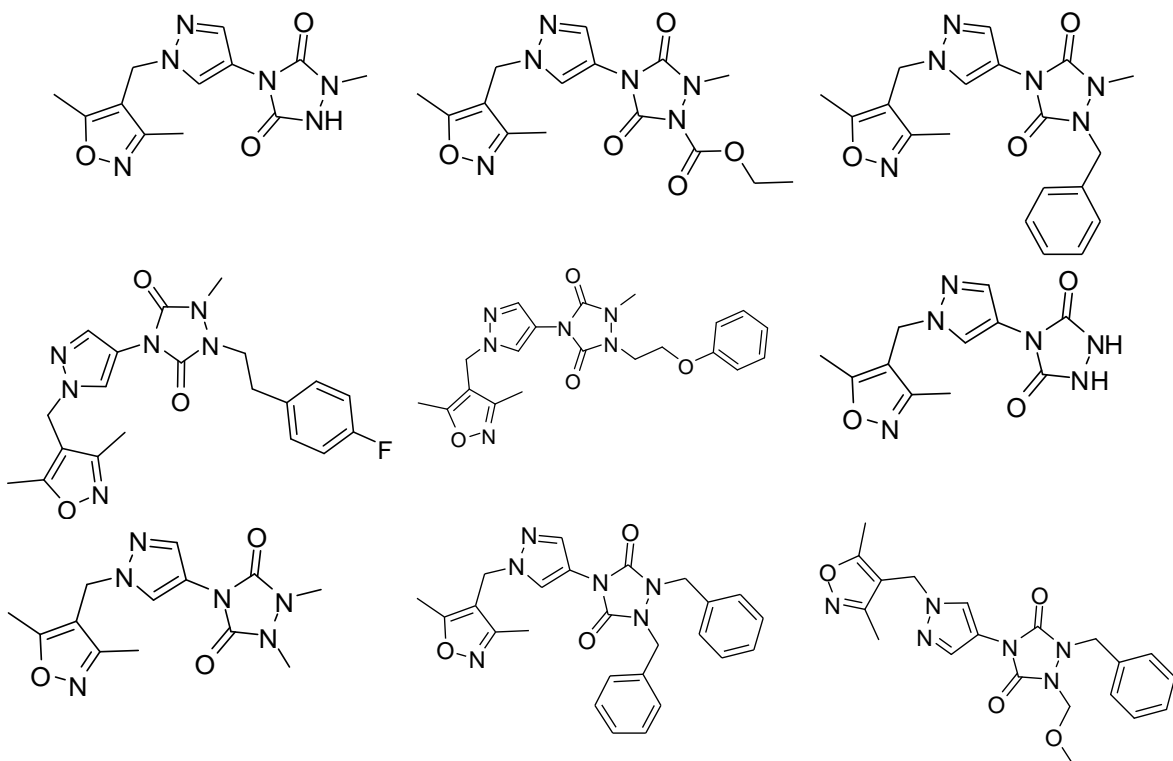


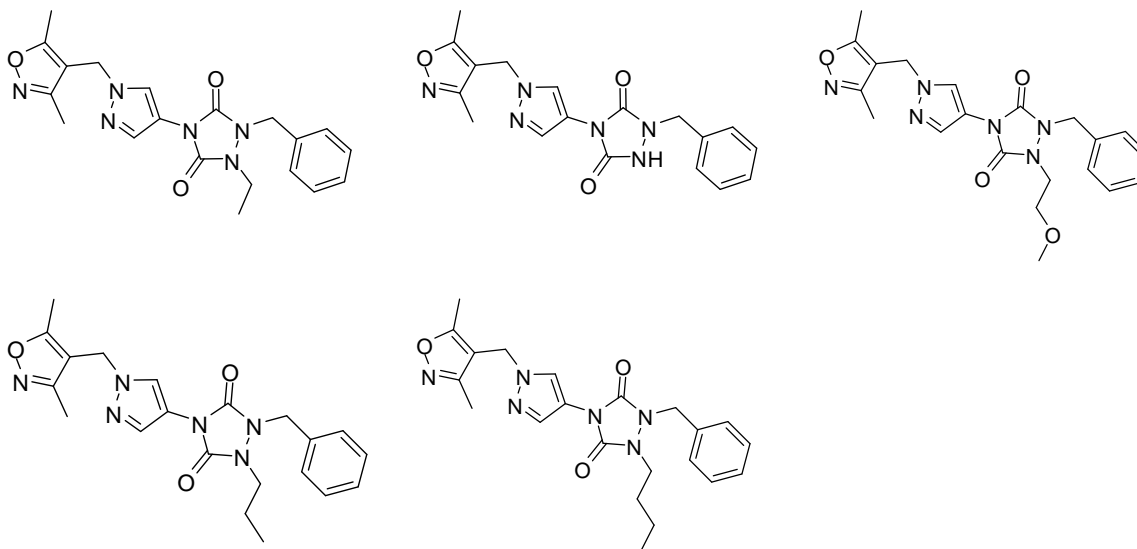




або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки.

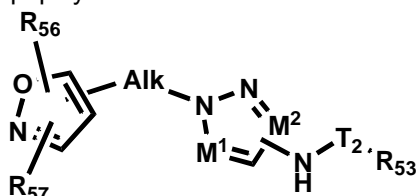
[0628] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до сполуки формули:





або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки.

[0629] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



5

або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,

де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

T₂ являє собою C=S, C=O або S(O)₂;

R₅₃ являє собою заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений арил або заміщений або незаміщений арилалкіл;

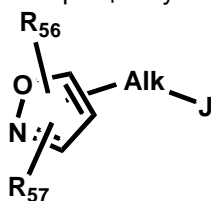
M¹ являє собою N або CR₅₄, де R₅₄ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

M² являє собою N або CR₅₅, де R₅₅ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R₅₆ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

R₅₇ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

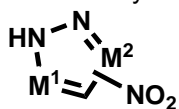
при цьому зазначений спосіб включає хімічну взаємодію сполуки формули:



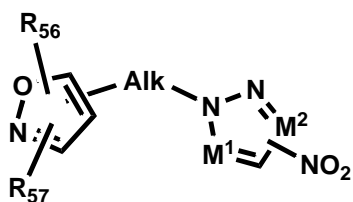
20

де R₅₆, R₅₇ і Alk визначені вище, і J являє собою групу, що відходить;

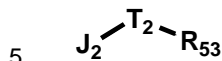
із сполукою формули:



де M¹ і M² визначені вище, з одержанням сполуки формули

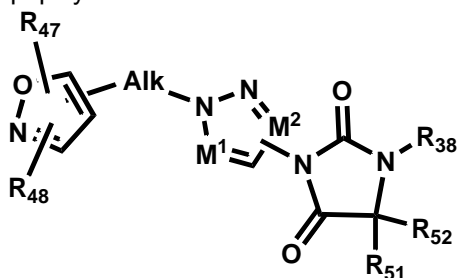


що містить NO₂ групу;
 відновлення NO₂ групи з одержанням сполуки, що містить NH₂ групу; і
 взаємодію сполуки, що містить NH₂ групу, із сполукою формули



де J₂ являє собою групу, що відходить, і T₂ й R₅₃ визначені вище.

[0630] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



10 або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки,
 де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

R₅₁ і R₅₂, які можуть бути однаковими або різними незалежно один від одного, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкоксі, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл, або R₅₁ й R₅₂ разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють заміщену або незаміщену алкенільну групу;

M¹ являє собою N або CR₄₉, де R₄₉ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

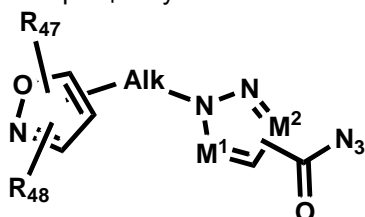
M² являє собою N або CR₅₀, де R₅₀ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R₃₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкоксі, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

30 R₄₇ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкоксі, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

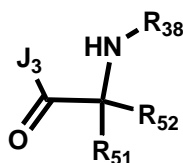
R₄₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкоксі, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

при цьому зазначений спосіб включає нагрівання сполуки формули:



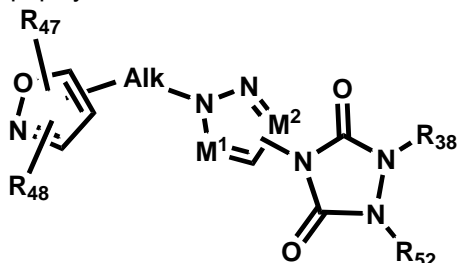
35 де R₄₇, R₄₈, Alk, M¹ й M² визначені вище;

для перетворення -CON₃ групи в -N=C=O групу, і потім проведення реакції із сполукою формули:



де J_3 являє собою групу, що відходить, і R_{38} , R_{51} й R_{52} визначені вище.

[0631] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



5

або солі, гідрату, сольвату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки, де Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

R_{52} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламіддоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламіддоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламіддоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламіддоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоалкіл;

M^1 являє собою N або CR_{49} , де R_{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

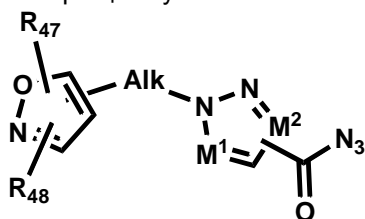
M^2 являє собою N або CR_{50} , де R_{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R_{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламіддоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламіддоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галоалкіл;

R_{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

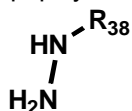
R_{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

при цьому зазначений спосіб включає нагрівання сполуки формули:



де R_{47} , R_{48} , Alk, M^1 і M^2 визначені вище;

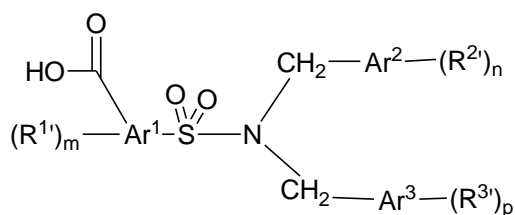
30 для перетворення $-CON_3$ групи в $-N=C=O$ групу і потім проведення реакції з гіdraзином формули:



де R_{38} визначений вище.

[0632] Згідно ще одному аспекту, винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:

35



(III)

або солі, гідрату, сольвату або N-оксиду зазначеної сполуки, де:

Ar^1 , Ar^2 і Ar^3 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце, при цьому Ar^2 і Ar^3 можуть бути відсутніми;

5 m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен $\text{R}^{1'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(=\text{NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

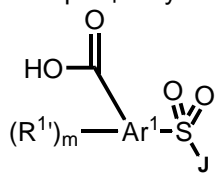
кожен $\text{R}^{2'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(=\text{NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

кожен $\text{R}^{3'}$ незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $\text{S}(\text{O})_b\text{R}^6$, NR^6R^7 , CONR^6R^7 , CO_2R^6 , $\text{NR}^6\text{CO}_2\text{R}^7$, $\text{NR}^6\text{CONR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{CSNR}^7\text{R}^8$, $\text{NR}^6\text{C}(=\text{NH})\text{NR}^7\text{R}^8$, $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{R}^6$, $\text{NR}^5\text{SO}_2\text{NR}^6\text{R}^7$, $\text{B}(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$, $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^5)(\text{OR}^6)$ і $\text{P}(\text{O})(\text{R}^5)(\text{OR}^6)$;

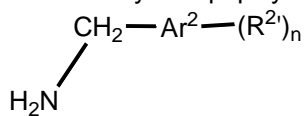
25 R^5 - R^8 незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R^6 і R^7 , R^7 й R^8 разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

30 b дорівнює 0, 1 або 2;

при цьому зазначений спосіб включає хімічну взаємодію сполуки формули:

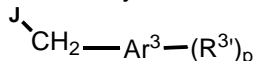


де J являє собою групу, що відходить;
із сполукою формули:



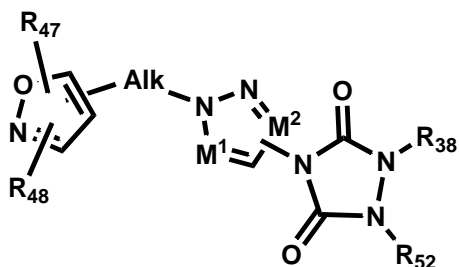
35 з одержанням продукту; і

хімічну взаємодію зазначеного продукту із сполукою формули:



де J являє собою групу, що відходить.

40 [0633] Згідно ще одного аспекту, даний винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



або солі, гідрату, сольовату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки, де:

Alk являє собою алкільну групу, що можливо містить гетероатом;

5 R_{52} являє собою Н, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкоксі, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або
10 незаміщений гетероарилалкіл, галогеналкіл;

M^1 являє собою N або CR_{49} , де R_{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

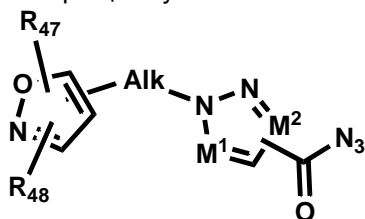
M^2 являє собою N або CR_{50} , де R_{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

15 R_{38} являє собою Н, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкокси, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галогеналкіл;

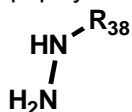
20 R₄₇ являє собою Н, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

R₄₈ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений алкокси, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

при цьому зазначений спосіб включає нагрівання сполуки формули:

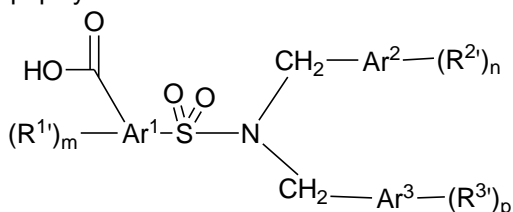


25 де R_{47} , R_{48} , Alk, M^1 й M^2 визначені вище,
для перетворення групи $-\text{CON}_3$ у групу $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ з наступною взаємодією з гідразином
формули:



де R_{38} визначений вище.

30 [0634] Згідно ще одного аспекту, даний винахід відноситься до способу одержання сполуки формули:



(III)

або солі, гідрату, сольовату, N-оксиду або проліків зазначеної сполуки, де:

35 Ar^1 , Ar^2 й Ar^3 незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце, при цьому Ar^2 й Ar^3 можуть бути відсутніми;
 m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R^{1i} незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

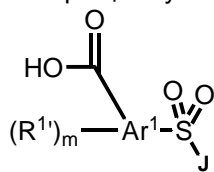
кожен R^{2i} незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

кожен R^{3i} незалежно обраний із групи, що включає водень, галоген, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, ацил, заміщений ацил, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл, заміщений гетероарилалкіл, CN , NO_2 , OR^6 , $S(O)_bR^6$, NR^6R^7 , $CONR^6R^7$, CO_2R^6 , $NR^6CO_2R^7$, $NR^6CONR^7R^8$, $NR^6CSNR^7R^8$, $NR^6C(=NH)NR^7R^8$, $SO_2NR^5R^6$, $NR^5SO_2R^6$, $NR^5SO_2NR^6R^7$, $B(OR^5)(OR^6)$, $P(O)(OR^5)(OR^6)$ і $P(O)(R^5)(OR^6)$;

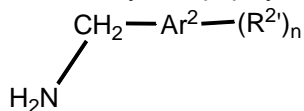
R^5 - R^8 незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл або, альтернативним чином, R^6 й R^7 , R^7 й R^8 разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалکیلне або заміщене циклогетероалکیلне кільце;

b дорівнює 0, 1 або 2;

при цьому зазначений спосіб включає хімічну взаємодію сполуки формули:

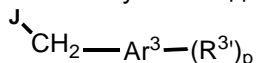


де J являє собою групу, що відходить;
з сполукою формули:



з одержанням продукту; і

хімічну взаємодію зазначеного продукту із сполукою формули:



де J являє собою групу, що відходить.

ПОСЛІДОВНОСТІ ГЕНІВ І ПОЛІПЕПТИДІВ ХИМЕРНОГО G-БІЛКА І hT2R

[0635] Послідовність Білка Родопсинової Мітки: (SEQ ID NO:1)

MNGTEGPNFYVPFSNKTGVVRSPFEAPQYYLAEPW

[0636] Послідовність Білка G16gust44: (SEQ ID NO:2)

MARSLTWRCCPWCLTEDEKAAARVDQEINRILLEQKKQDRGELKLLLLGPGESGKSTFIKQMRIIH

GAGYSEEERKGRPLVYQNIFVSMRAMIEAMERLQIPFSRPESKHHSALVMSQDPYKVTTFEKRYAA

AMQWLWRDAGIRACYERRREFHLLDSAVYYLSHLERITEEGYVPTAQDVLRSRMPPTTGINEYCFVSVQ

KTNLRIVDVGGQKSERKKWIHCFENVIALIYASLSEYDQCLEENNQENRMKESLALFGTILELPWFKS

TSVILFLNKTDILEEKIPTSHLATYFSPFQGPQKQDAEAAKRFILDMYTRMYTGCVDGPEGSNLKKEDKEI

YSHMTCATDQTQNVKFVFDVATDIIKENLKDCGLF

[0637] Послідовності hT2R8:

ДНК-(SEQ

ID

NO:3)

ATGTTTCAGTCCTGCAGATAACATCTTTATAATCCTAATAACTGGAGAATTCATACTAGGAATATTG

GGGAATGGATACAT

TGCACTAGTCAACTGGATTGACTGGATTAAAGAAGAAAAAGATTTCCACAGTTGACTACATCCT

TACCAATTTAGTTATCG

CCAGAATTTGTTTGATCAGTGTAATGGTTGTAAATGGCATTGTAATAGTACTGAACCCAGATG

TTTATACAAAAATAAA

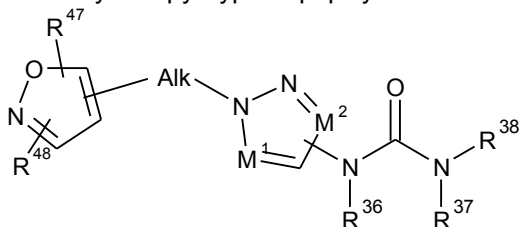
CAACAGATAGTCATTTTTACCTTCTGGACATTTGCCAACTACTTAAATATGTGGATTACCACCT
 GCCTTAATGTCTTCTA
 TTTTCTGAAGATAGCCAGTTCCTCTCATCCACTTTTTCTCTGGCTGAAGTGGAATGATATG
 GTGGTGCAGTGGATCC
 5 TGCTGGGATGCTTTGCCATTCCTTGTTGGTCAGCCTTATAGCAGCAATAGTACTGAGTTGTG
 ATTATAGTTTTATGCA
 ATTGCCAAACATAAAAGAAACATTACTGAAATGTTCCATGTGAGTAAATACCATACTTTGAAC
 CCTTACTCTCTTTAA
 CCTGTTTGCAATTGTCCATTTATTGTGTCACTGATATCATTTTTCTTTTAGTAAGATCTTTAT
 10 GGAGACATACCAAGC
 AAATAAACTCTATGCTACCGGCAGTAGAGACCCAGCACAGAAGTTCATGTGAGAGCCATT
 AAAACTATGACTTCATTT
 ATCTCTTTTTTTCTATACTATATTTCTTCTATTTTGATGACCTTTAGCTATCTTATGACAAAA
 TACAAGTTAGCTGT
 15 GGAGTTTGGAGAGATTGCAGCAATTCTCTACCCCTTGGGTCACTCACTTATTTAATTGTTTTA
 AATAATAAACTGAGGC
 AGACATTTGTCAGAATGCTGACATGTAGAAAAATTGCCTGCATGATATGA
 Білок-(SEQ ID NO:4)
 MFSPADNIFIILITGEFILGILNGYIALVNWIDWIKKKKISTVDYILTNLVIARICLISVMVVGIVIVLNP
 20 DVYTKNK
 QQIVFTFWTFANYLNMWITTCNLNFIYFLKIASSSHPLFLWLKWKIDMVVHWILLGCFALSLVSLIA
 AIVLSCDYRFHA
 IAKHKRNITEMFHVSKIPYFEPLTLFNLFAIVPFIVSLISFFLLVRSLSWRHTKQIKLYATGSRDPSTEV
 HVRAIKTMTSF
 25 IFFFFLYYISSILMTFSYLMTKYKLAVEFGEIAAILYPLGHSLILIVLNNKLRQTFVRMLTCRKIACMI
 [0638] Послідовності hT2R14:
 ДНК-(SEQ ID NO:5)
 ATGGGTGGTGTCTATAAGAGCATATTTACATTCGTTTTAATTGTGGAATTTATAATTGGAAATTTAG
 GAAATAGTTTCAT
 30 AGCACTGGTGAAGTGTATTGACTGGGTCAAGGGAAGAAAGATCTCTTCGGTTGATCGGATCC
 TCACTGCTTTGGCAATCT
 CTCGAATTAGCCTGGTTTGGTTAATATTCGGAAGCTGGTGTGTGTCTGTGTTTTTCCCAGCTT
 TATTTGCCACTGAAAAA
 ATGTTTCAAGTGTCTACTAATATCTGGACAGTGATCAATCATTTTAGTGTCTGGTTAGCTACAG
 35 GCCTCGGTACTTTTTA
 TTTTCTCAAGTAGCCAATTTTTCTAACTCTATTTTTCTCTACCTAAAGTGGAGaGTTAAAAAGG
 TGGTTTTGGTGCTGC
 TTCTTGAGCTTCGGTCTTCTGTTTTTAAATATTGCACTGATAAACATCCATATAAATGCCAGT
 ATCAATGGATACAGA
 40 AGAAACAAGACTTGCGATTCTGATTCAAGTAACCTTTACACGATTTCCAGTCTTATTGTATTAA
 CCAGCACTGTGTTTCAT
 TTTTATACCTTTACTTTGTCCCTGGCAATGTTTCTTCTCCTCATCTTCTCCATGTGGAAACAT
 CGCAAGAAGATGCAGC
 AACTGTCAAAATATCCGGAGACGCCAGCACCAAAGCCACAGAGGAGTTAAAAGTGTGATC
 45 ACTTTCTTCTACTCTAT
 GCCATTTTCTCTCTGTCTTTTTTTCATATCAGTTTGGACCTCTGAAAGGTTGGAGGAAAAATCTAA
 TTATTCTTTCCCAGGT
 GATGGGAATGGCTTATCCTTCATGTCACTCATGTGTTCTGATTCTTGGAAACAAGAAGCTGAG
 ACAGGCCTCTCTGTGAG
 50 TGCTACTGTGGCTGAGGTACATGTTCAAAGATGGGGAGCCCTCAGGTACAAAGAATTTAGA
 GAATCATCTTGA
 Білок-(SEQ ID NO:6)
 MGGVIKSIPTFVLIVEFIIGNLGNSFIALVNCIDWVKGRKISSVDRILTALAISSRLVWLIFGWSWCVSV
 FFPALFATEK
 55 MFRMLTNWTVINHFSVWLATGLGTFYFLKIANFSNSIFLYLKWRVKVVLVLLVTSVFLFLNIALIN
 IHINASINGYR
 RNKTCSSDSSNFTRFSSLIVLTSTVFIFIPFTLSLAMFLLLIFSMWKHRKKMQHTVKISGDASTKAHR
 GVKSVITFFLLY
 AIFSLFFISVWTSERLEENLIILSQVMGMAYPSCHSCVLILGNKKLRQASLSVLLWLRVYMFKDGEF
 60 SGHKEFRESS

[0639] Незважаючи на те, що в наведеному вище детальному описі розкриті декілька варіантів здійснення даного винаходу, варто розуміти, що даний опис є лише ілюстративним, і не обмежує розкритого винаходу. Даний винахід обмежений лише формулою, наведеною нижче.

5

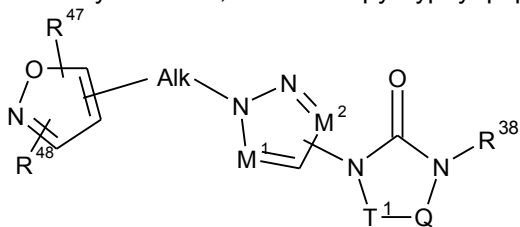
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука структурної формули



- 10 або її сіль, гідрат, сольват, N-оксид,
де Alk являє собою алکیلну групу, що, необов'язково, переривається гетероатомом;
M¹ являє собою N або CR⁴⁹, де R⁴⁹ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
M² являє собою N або CR⁵⁰, де R⁵⁰ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
R³⁶ і R³⁷, будучи однаковими або різними, незалежно один від іншого, являють собою H, алкіл,
15 або R³⁶ і R³⁷, разом з атомами, до яких вони приєднані, утворюють, необов'язково, заміщений п'яти- або шестичленний гетероцикл; і
R³⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галогеналкіл;
R⁴⁷ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і
20 R⁴⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

2. Сполука за п. 1, яка має структурну формулу:



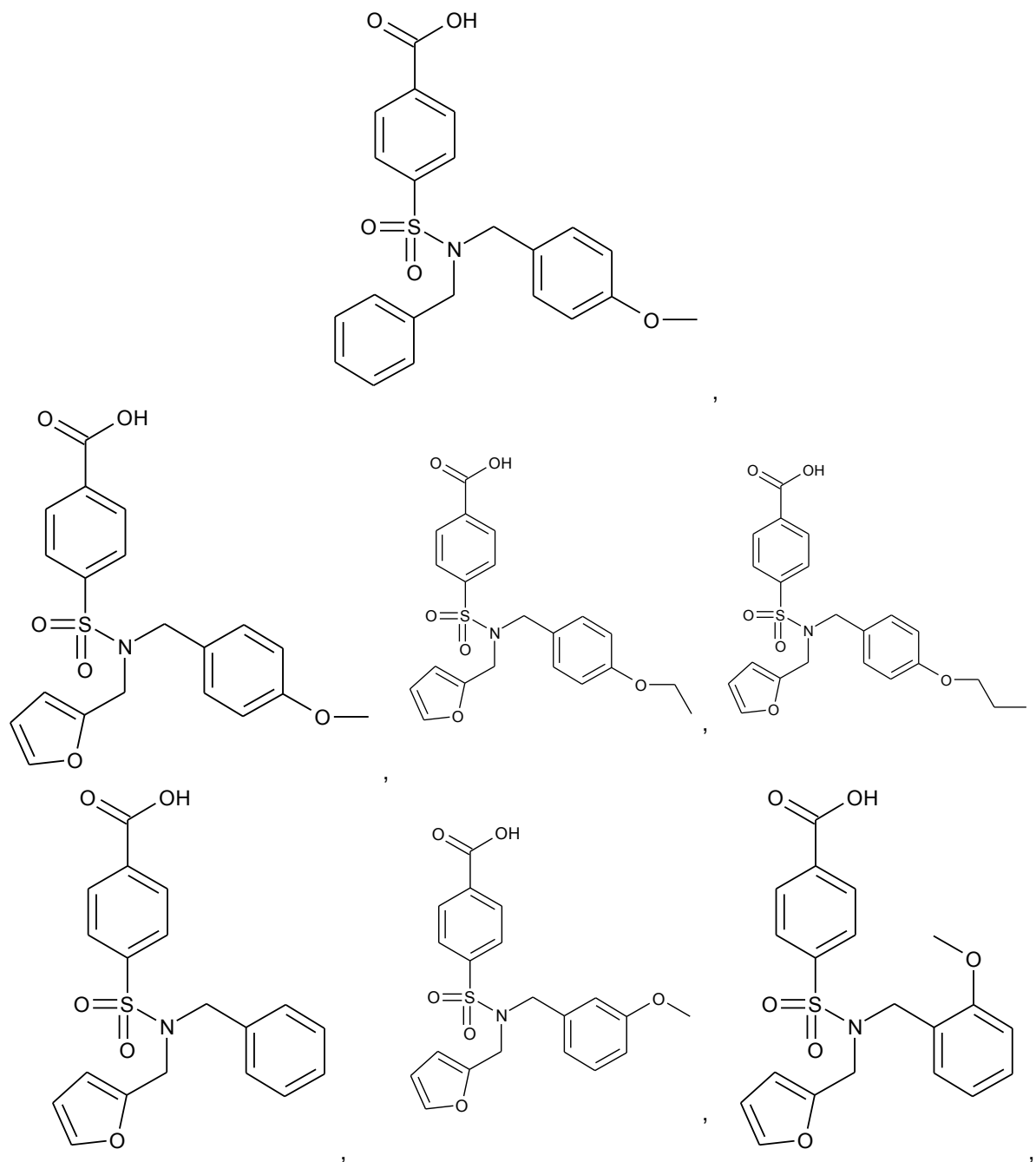
- 30 або її сіль, гідрат, сольват, N-оксид,
де Alk являє собою алکیلну групу, що, необов'язково, переривається гетероатомом;
G являє собою C=O і Q являє собою CR⁵¹R⁵² або NR⁵¹, де R⁵¹ і R⁵², будучи однаковими або різними, незалежно один від іншого, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкілалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкілалкілалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галогеналкіл, або R⁵¹ і R⁵², разом з вуглецевим атомом, до якого вони приєднані, утворюють групу C=O або заміщену
40 або незаміщену алкенільну групу;
M¹ являє собою N або CR⁴⁹, де R⁴⁹ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
M² являє собою N або CR⁵⁰, де R⁵⁰ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;
R³⁸ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідоалкіл, заміщений або незаміщений гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену
45 гетероариламідоалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену

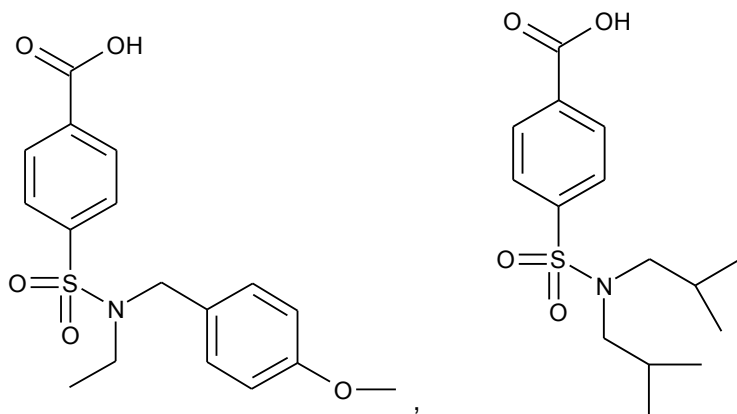
арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галогеналкіл;

R^{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

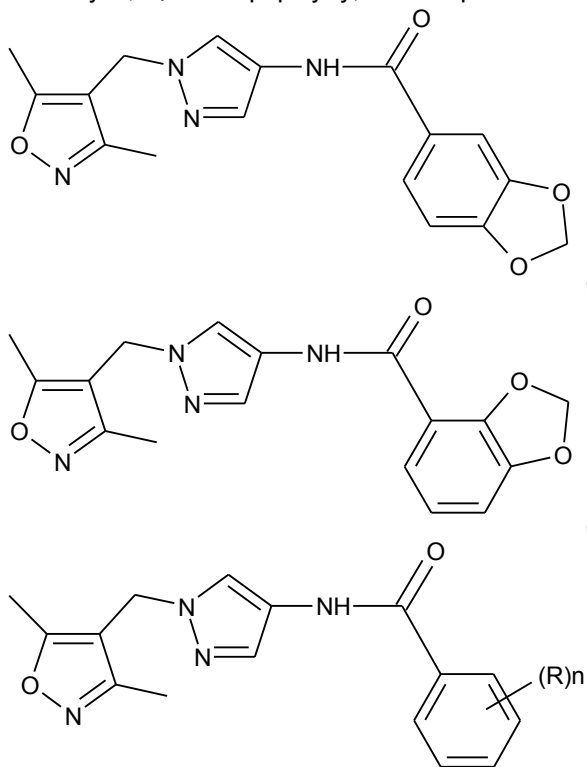
5 R^{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген.

3. Сполука, що має формулу, яка вибрана з наступної групи сполук:





4. Сполука, що має формулу, яка вибрана з наступної групи сполук:

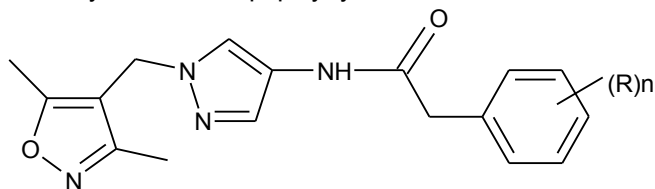


5

або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид,
де кожний R незалежно являє собою Cl, MeO, CN, EtO, OH, Me, -SO₂Me, F, H,
і
n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

10

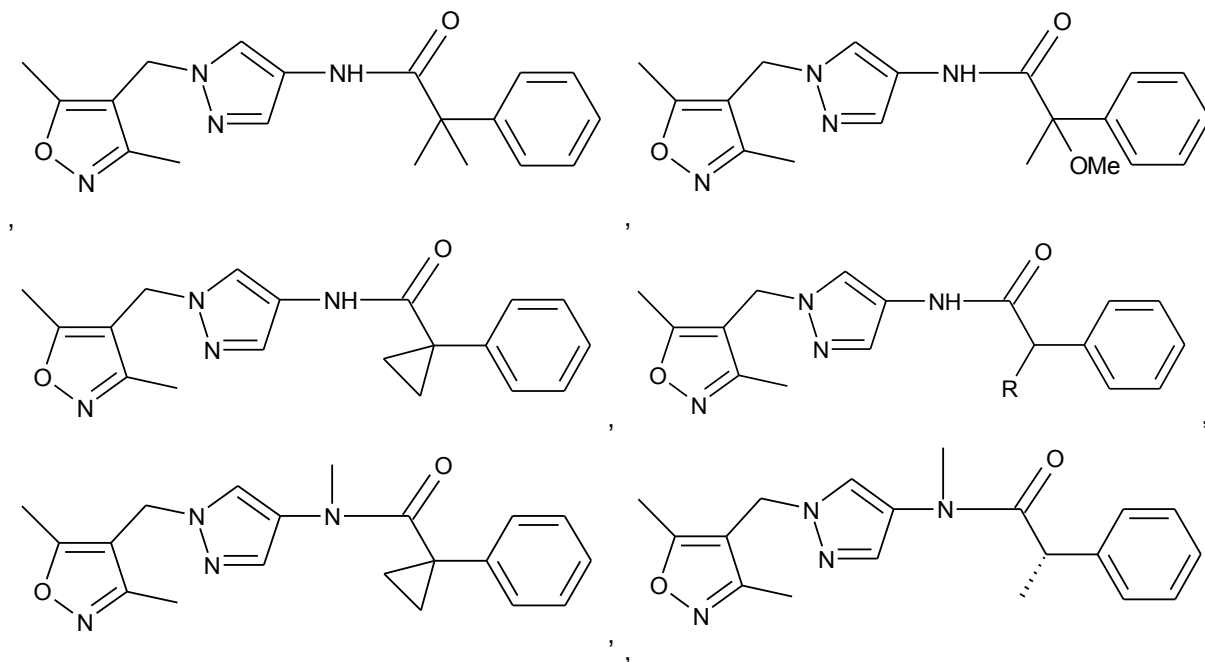
5. Сполука, що має формулу:



або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид,
де кожний R незалежно являє собою MeO, OH, і
n дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

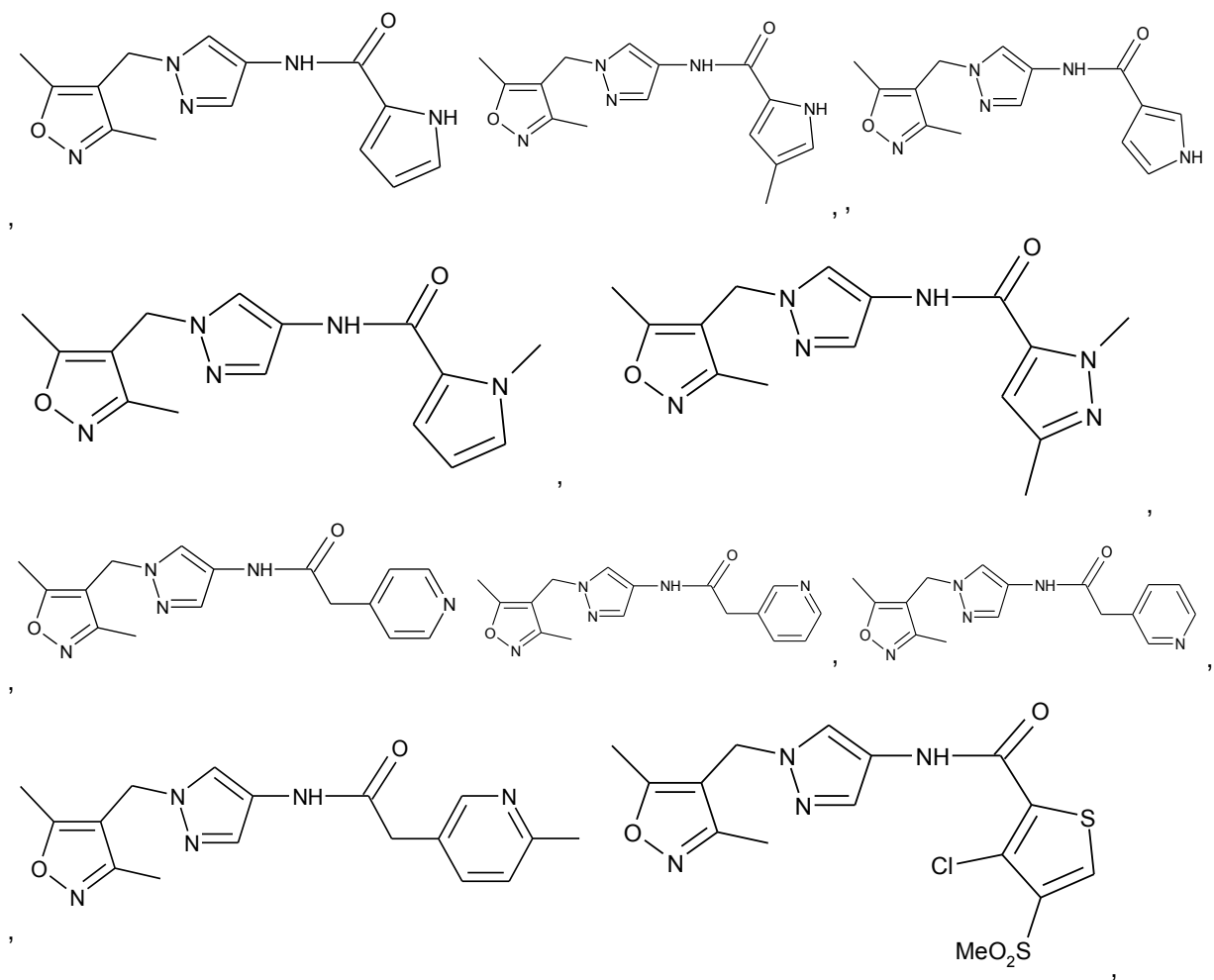
15

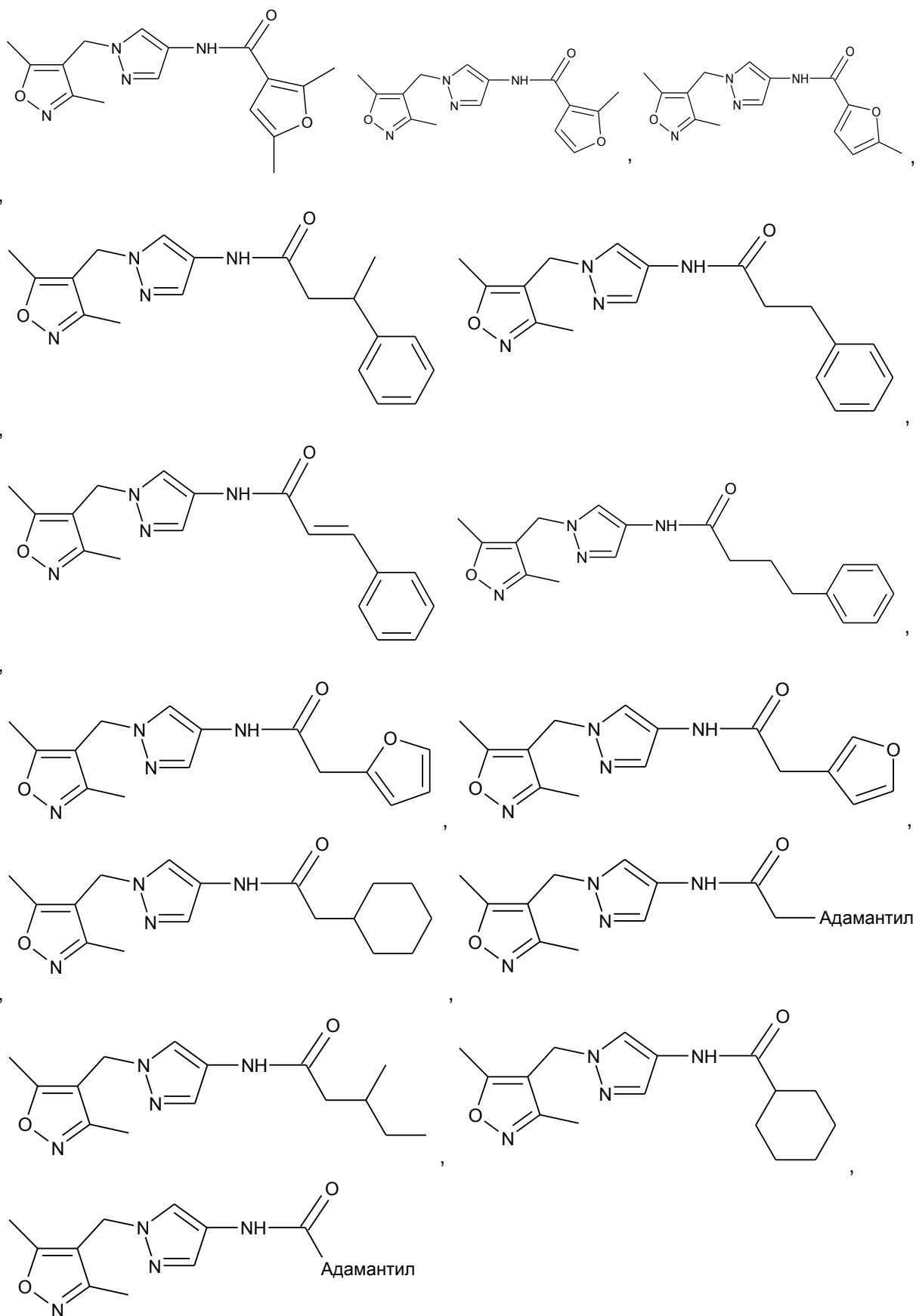
6. Сполука, що має формулу, яка вибрана з наступної групи сполук:

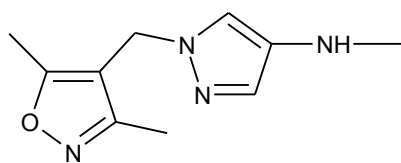


або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид,
де R вибраний із групи, що складається з H, Me, Et, OCOMe, CH₂OH, OMe і Ph.
7. Сполука, що має формулу, яка вибрана з наступної групи сполук:

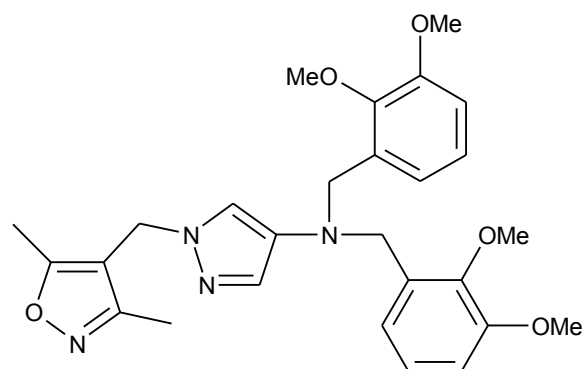
5



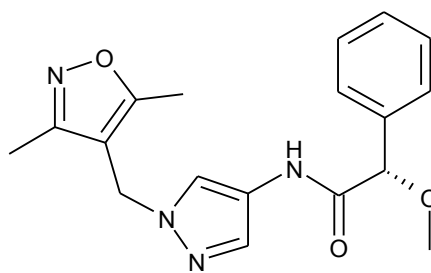




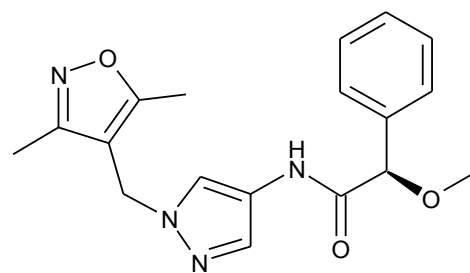
,



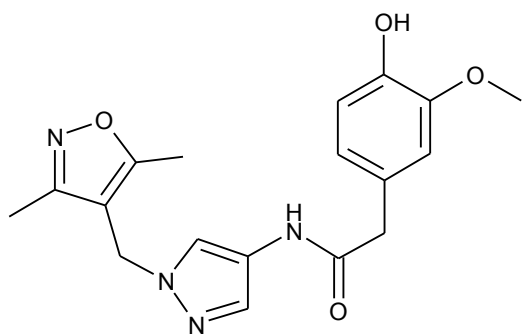
,



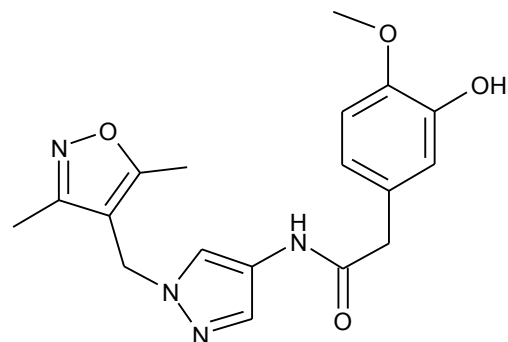
,



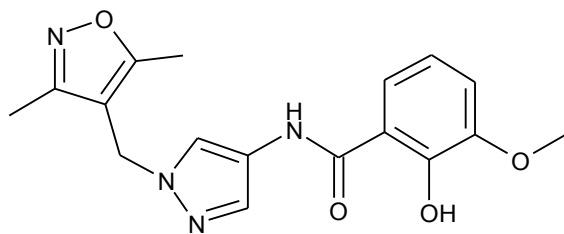
,



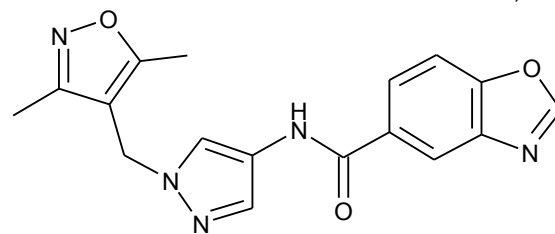
,



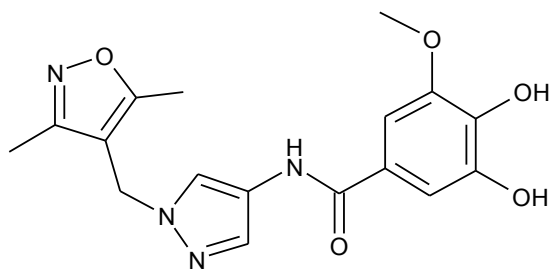
,



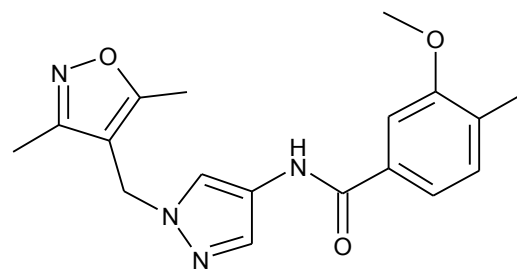
,



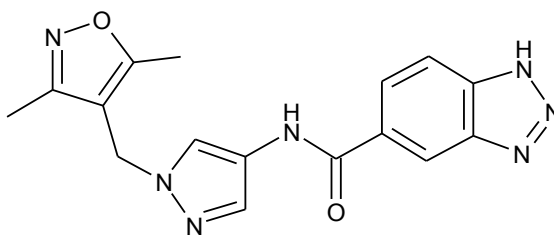
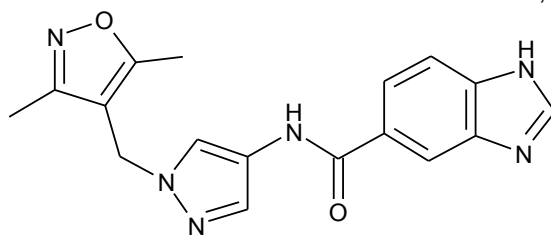
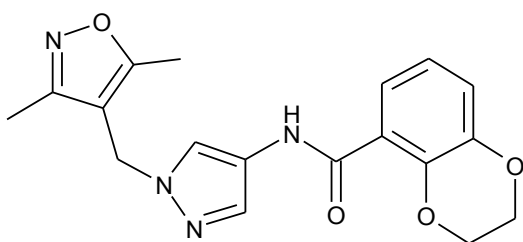
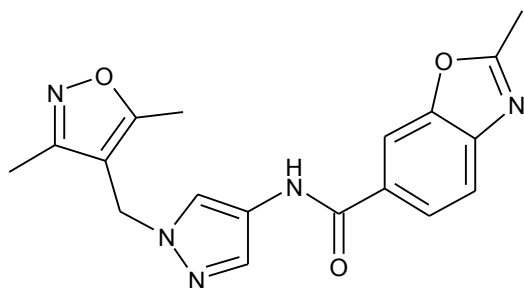
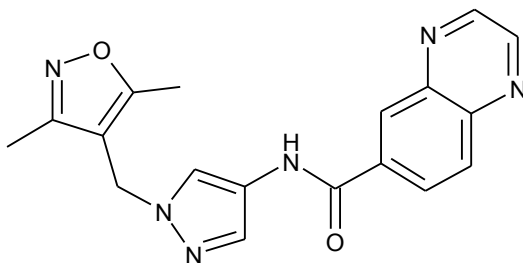
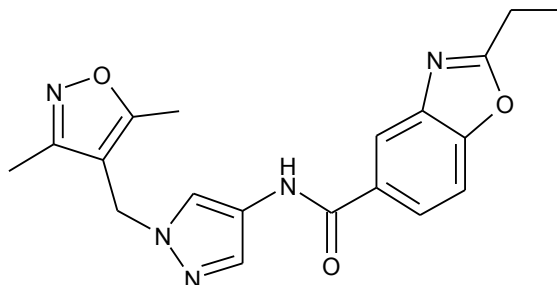
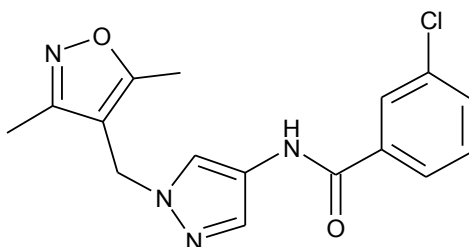
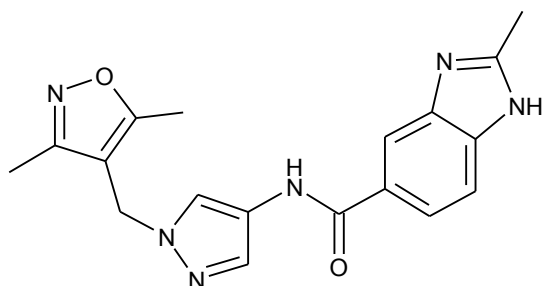
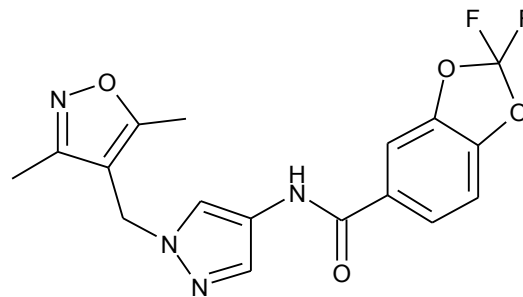
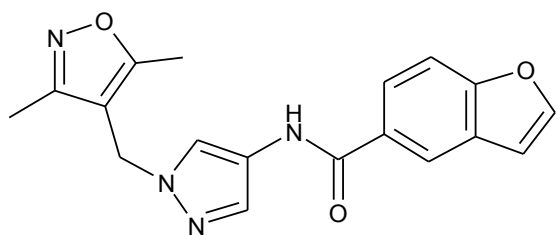
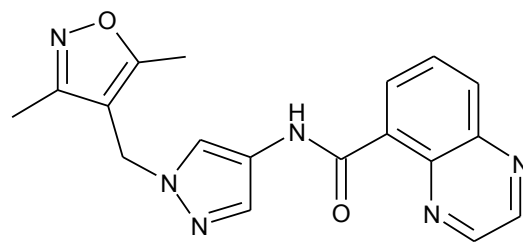
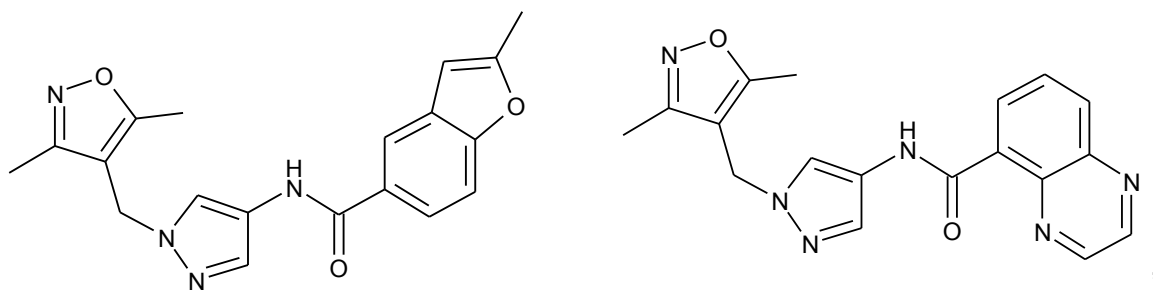
,

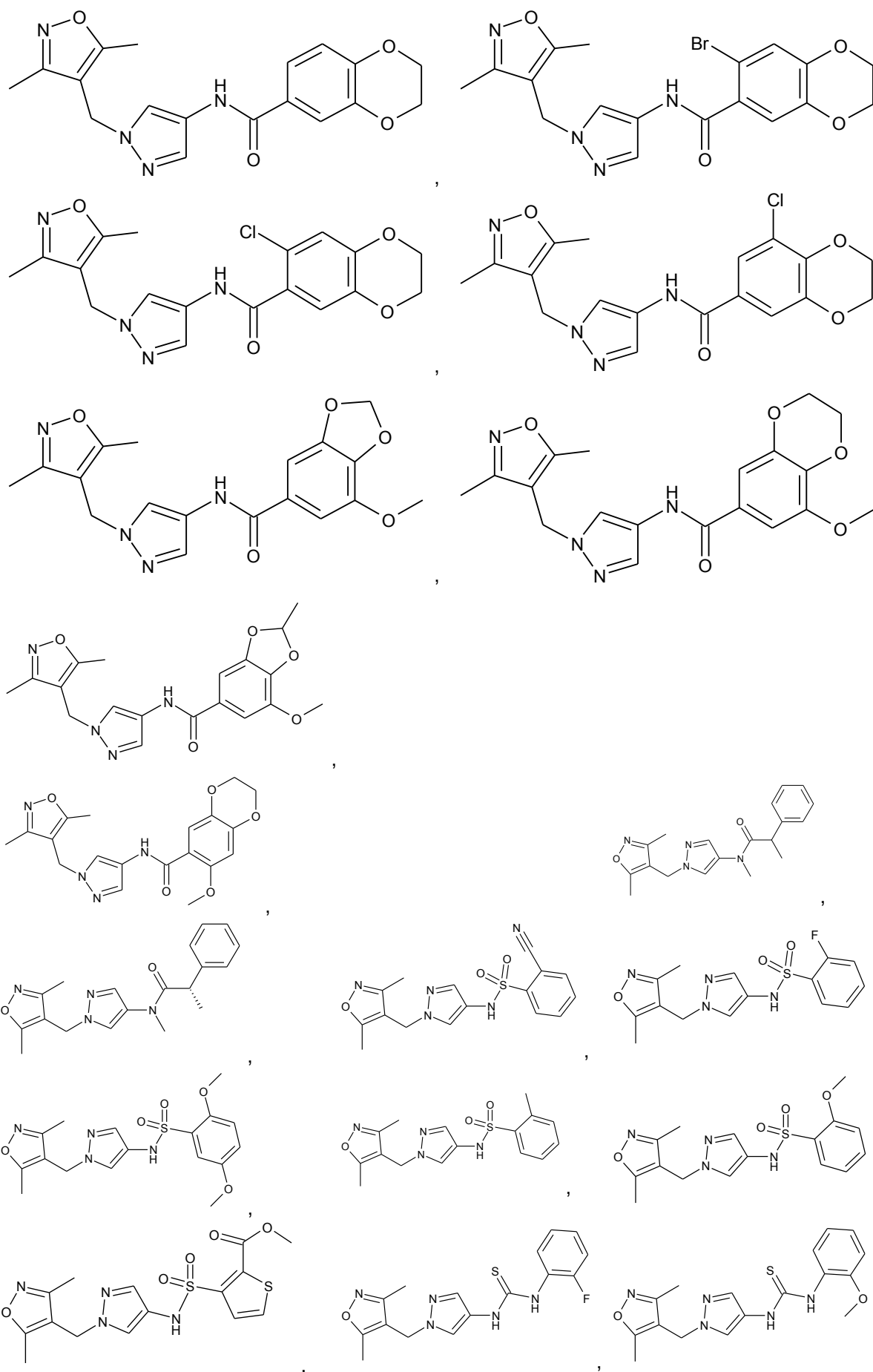


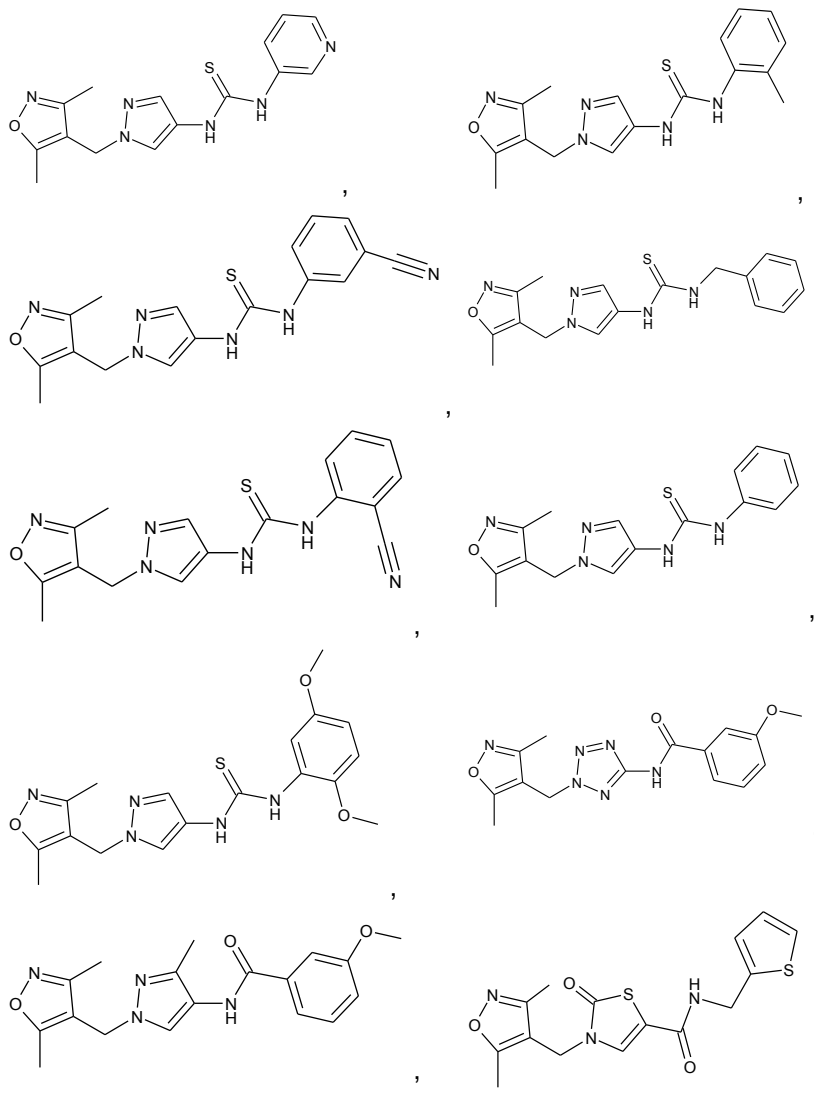
,



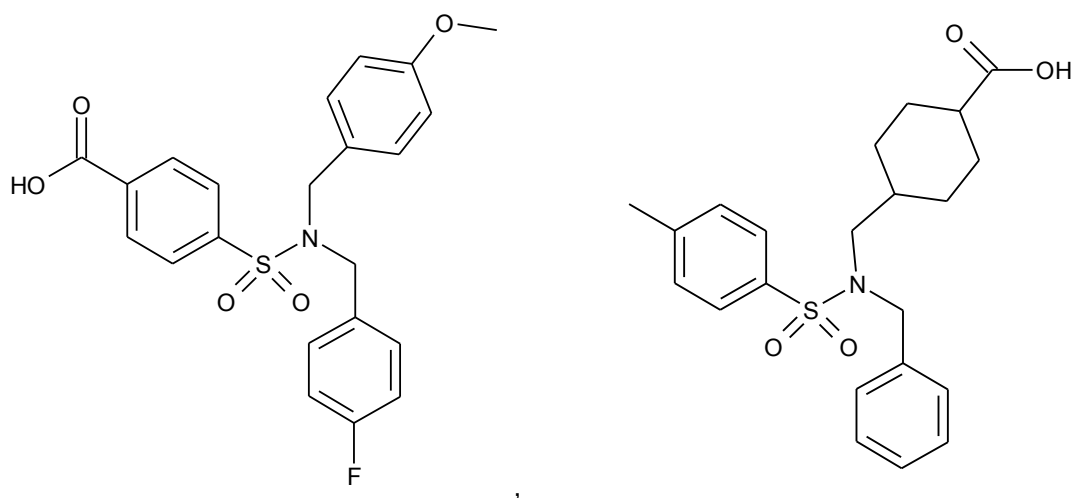
,

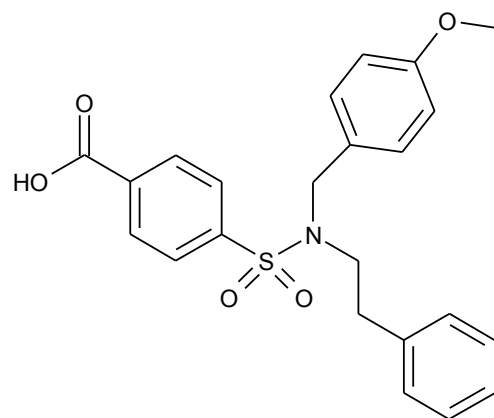
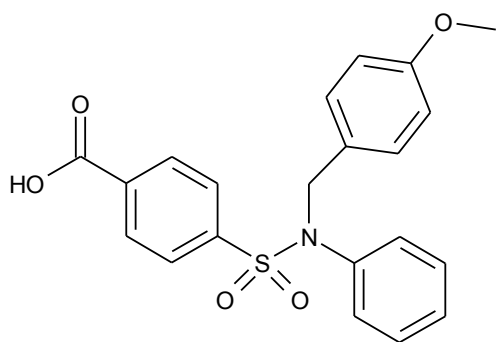
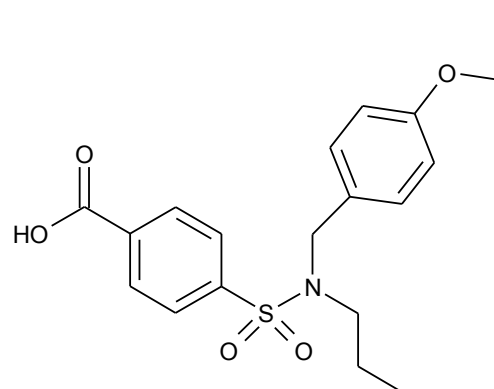
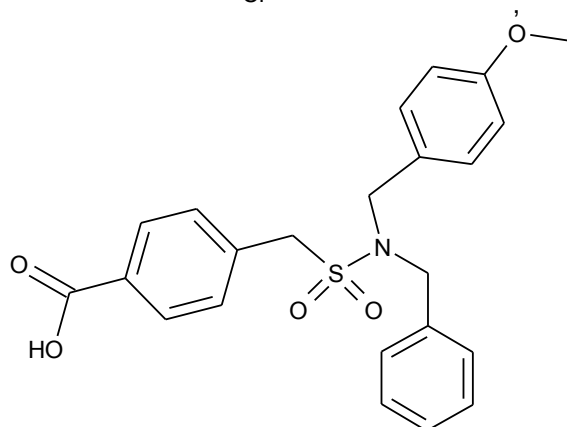
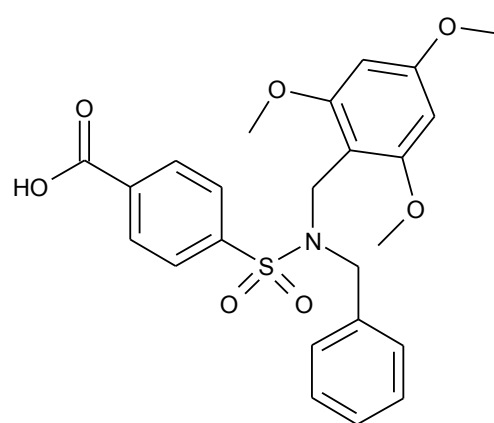
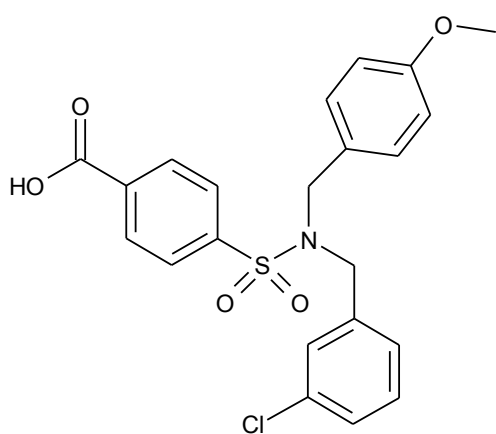
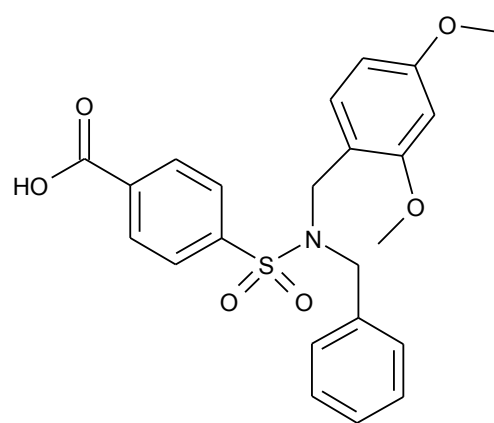
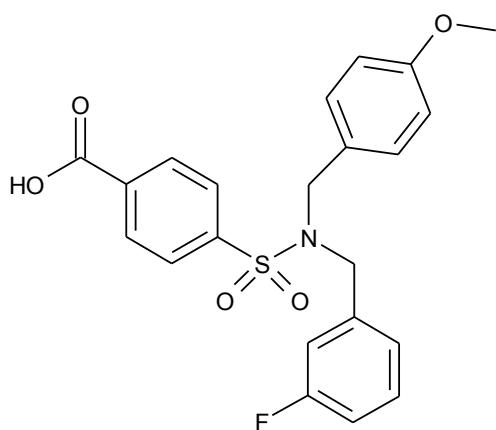


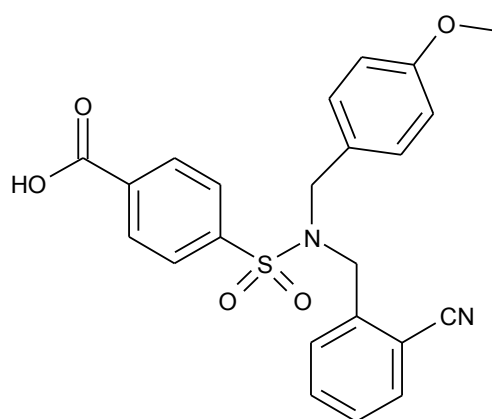
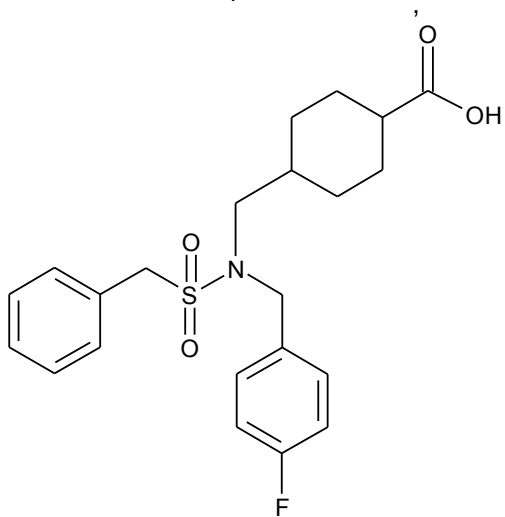
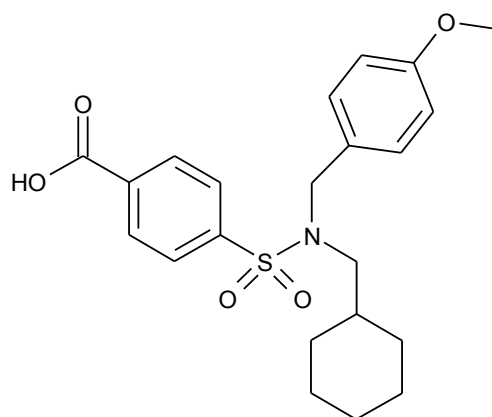
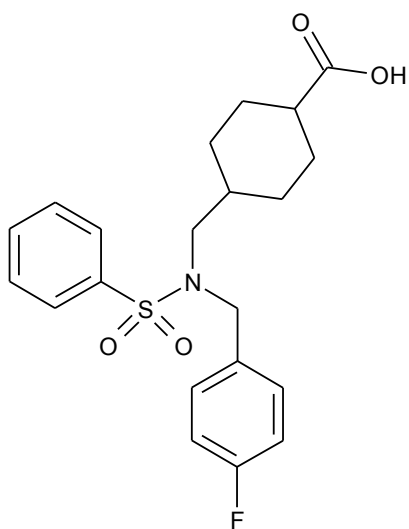
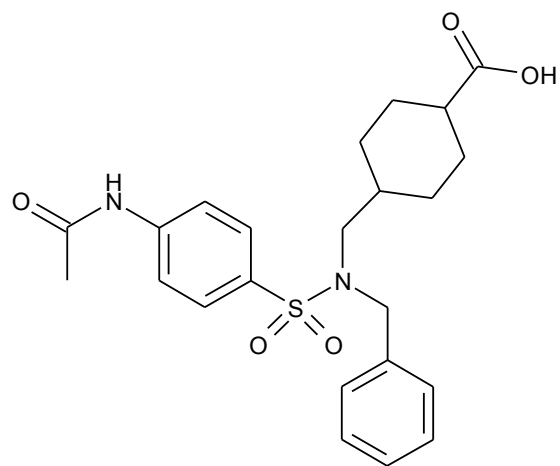
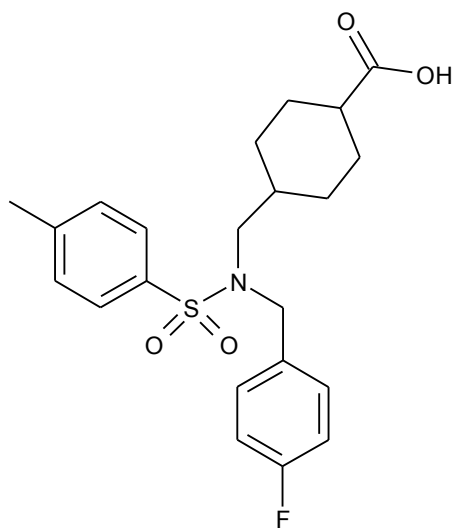


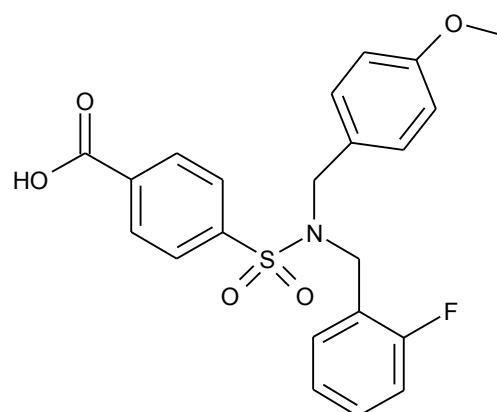
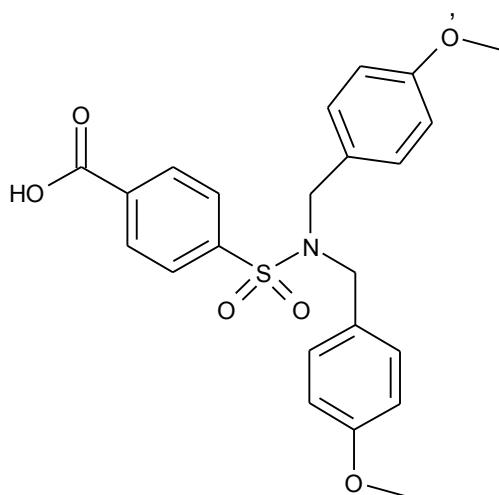
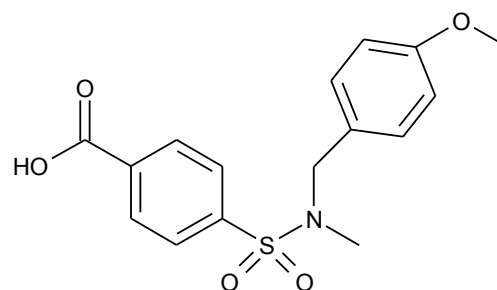
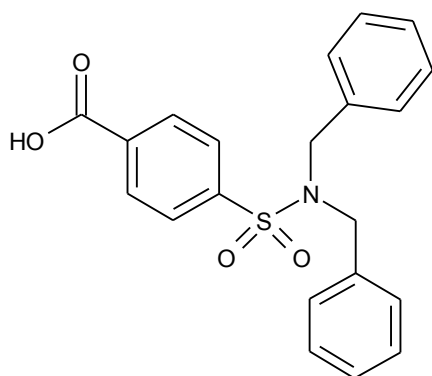
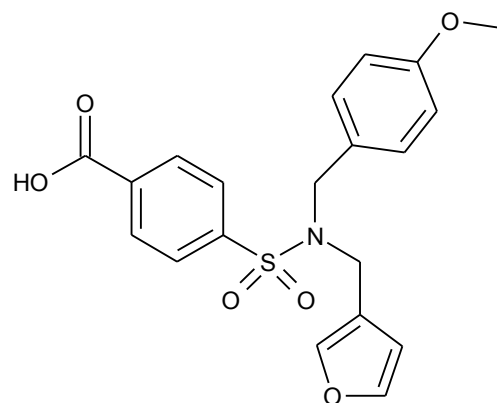
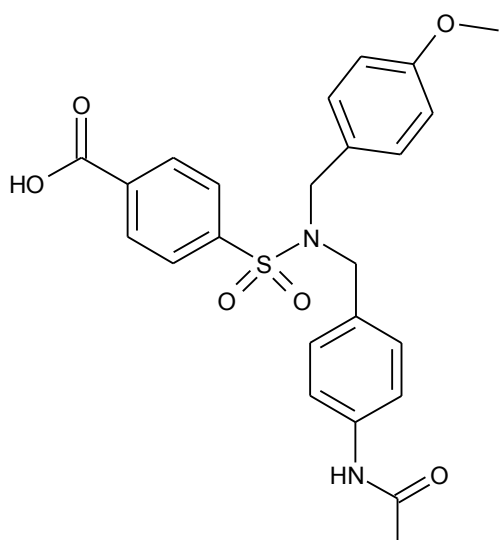


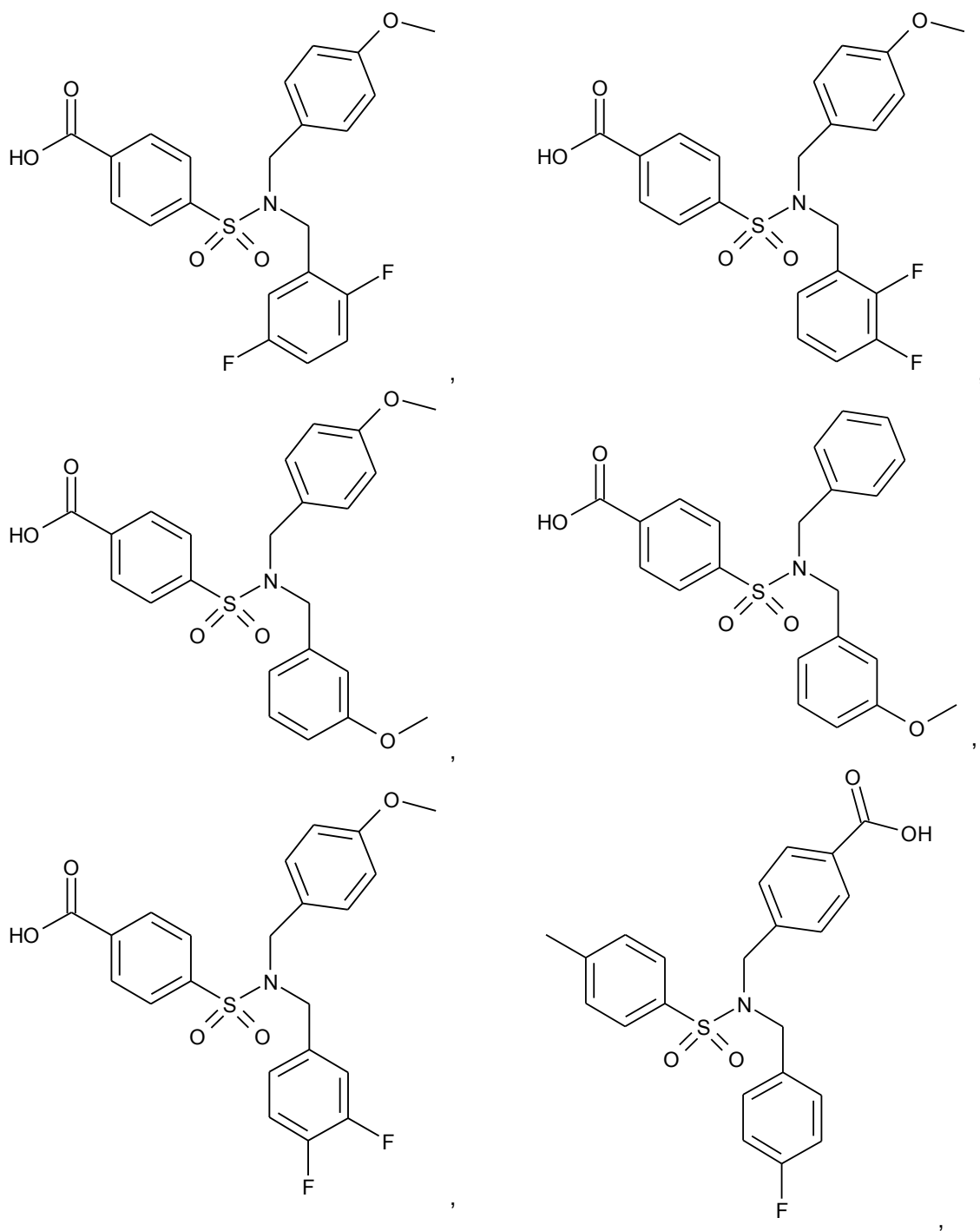
8. Сполука, що має формулу, яка вибрана з наступної групи сполук:

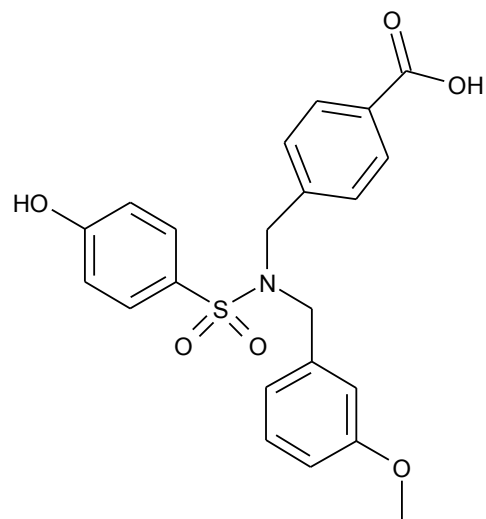
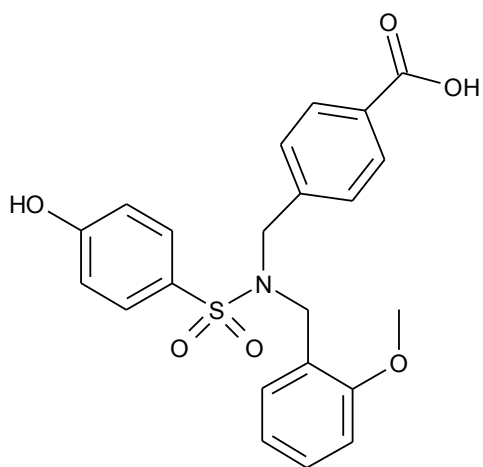
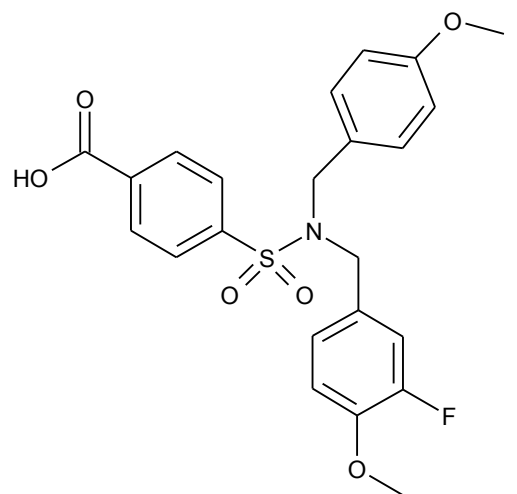
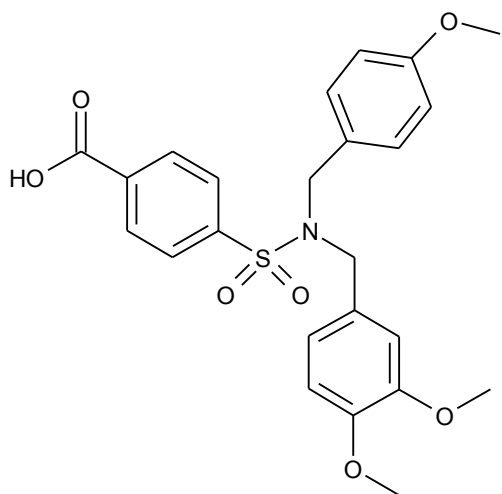
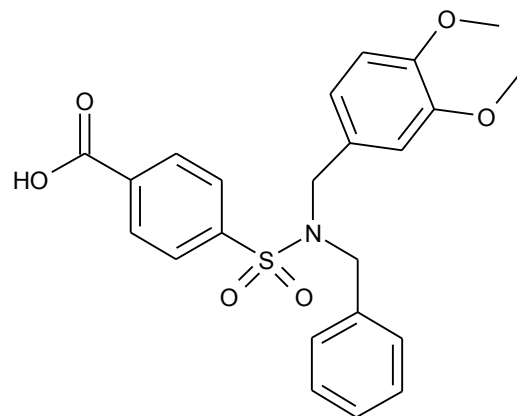
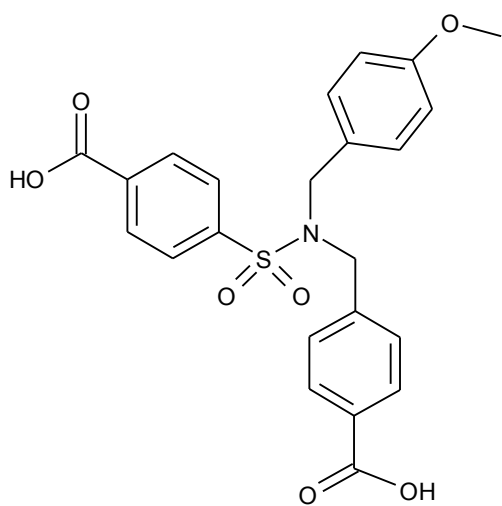


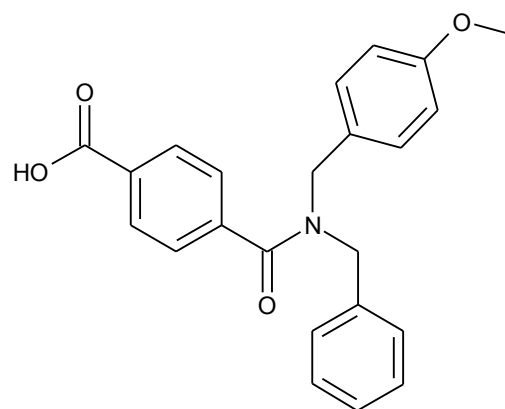
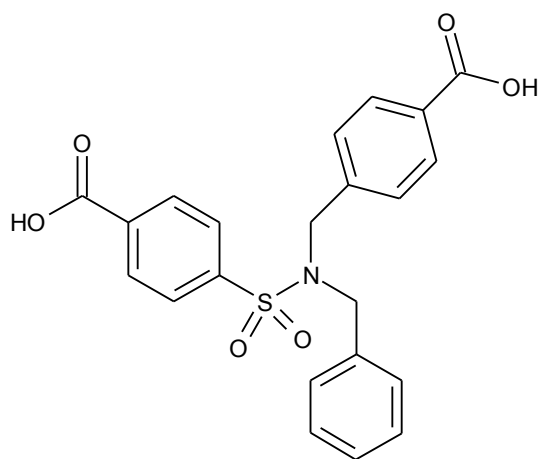
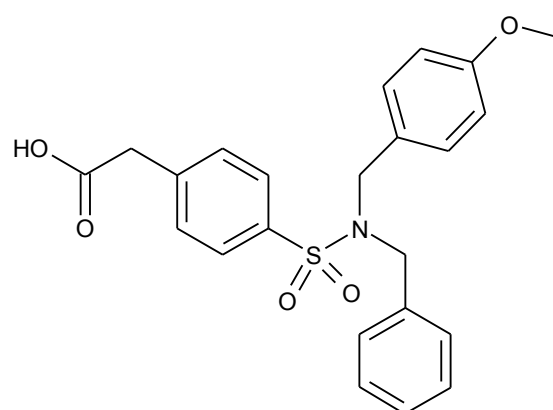
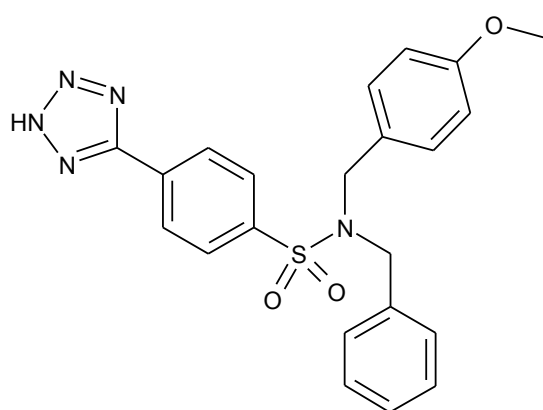
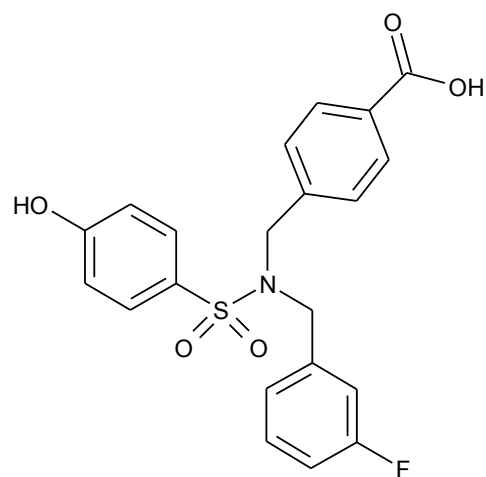
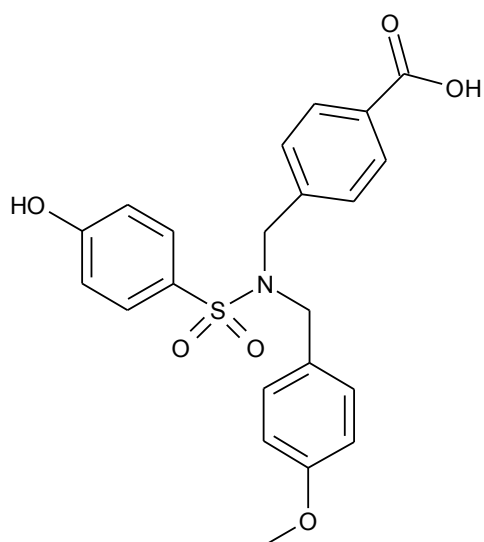


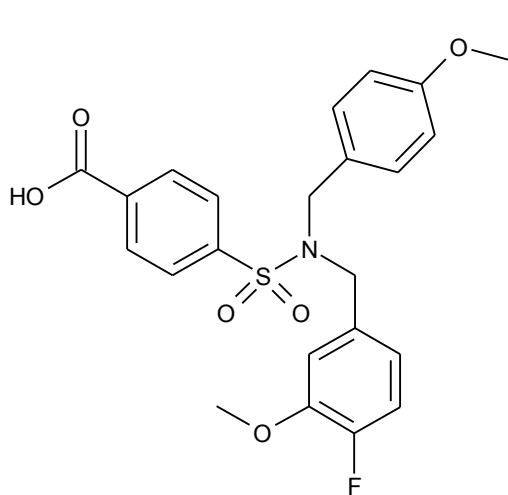




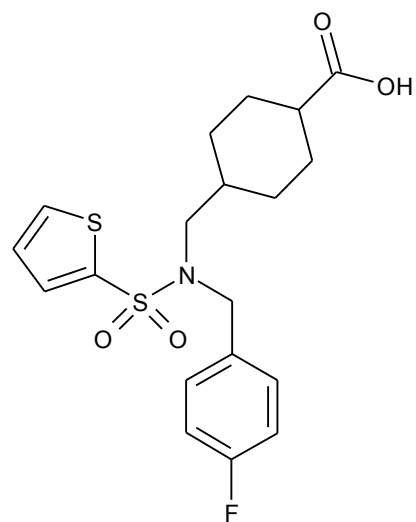




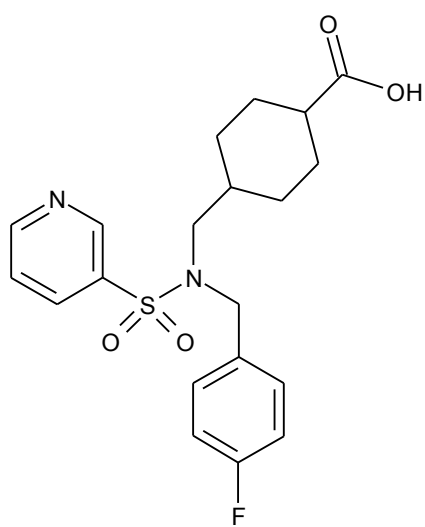




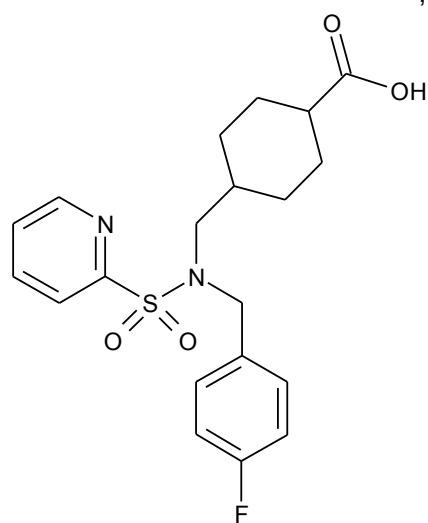
,



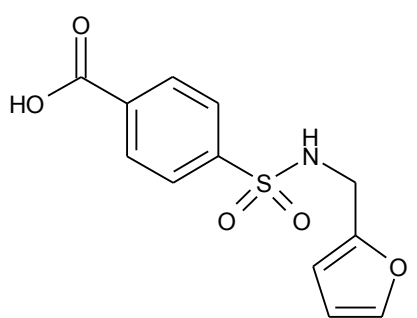
,



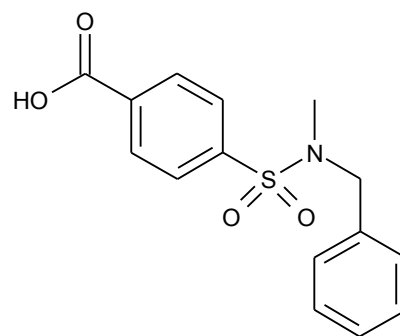
,



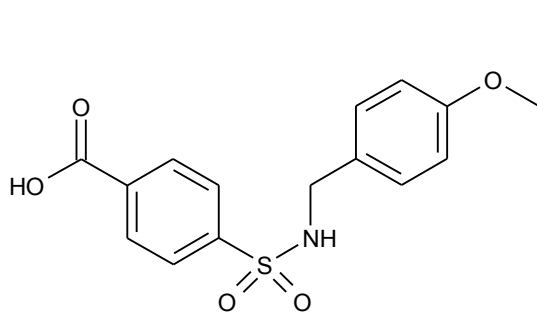
,



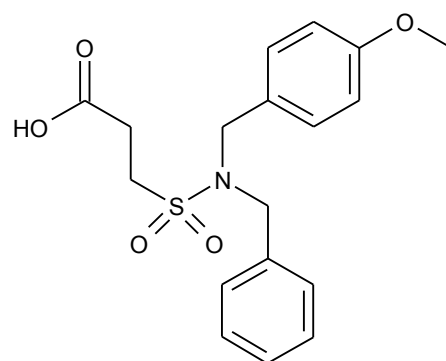
,



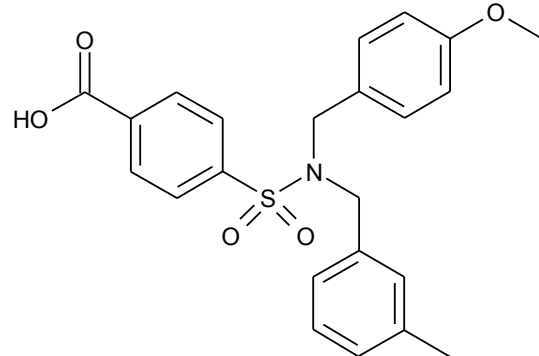
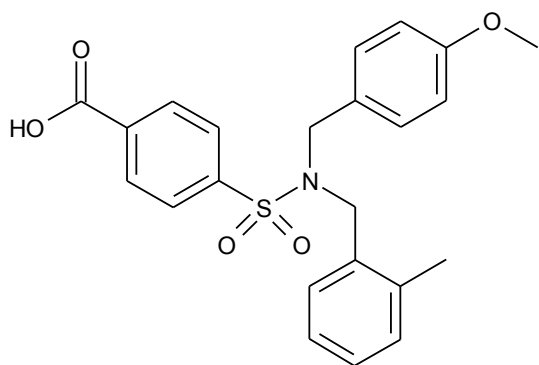
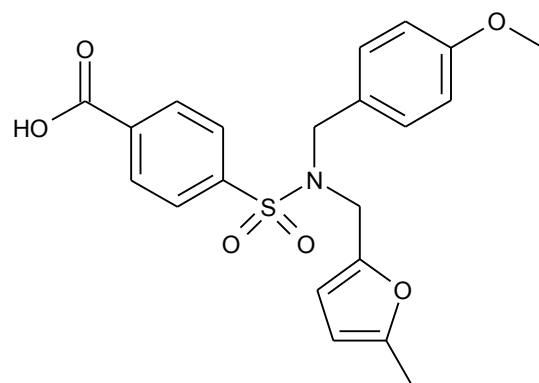
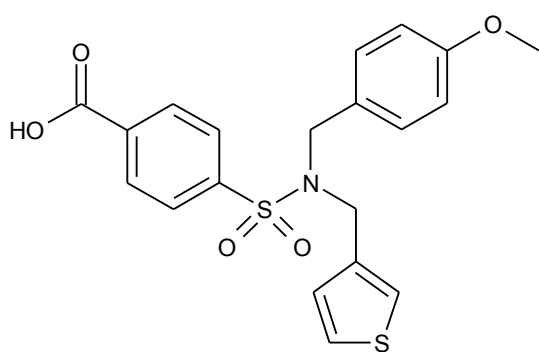
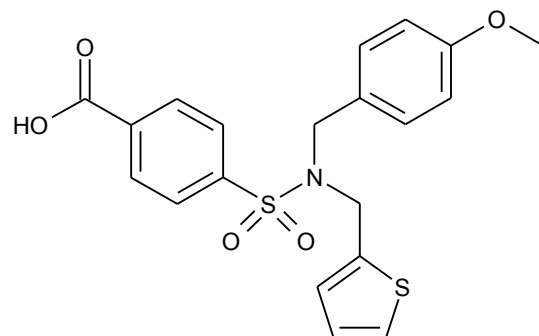
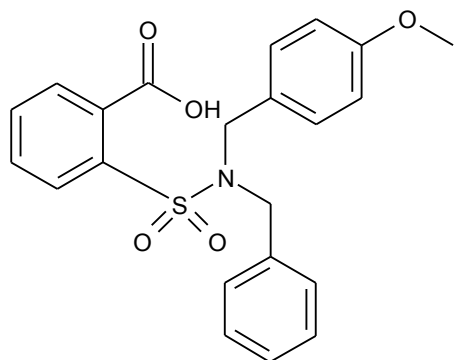
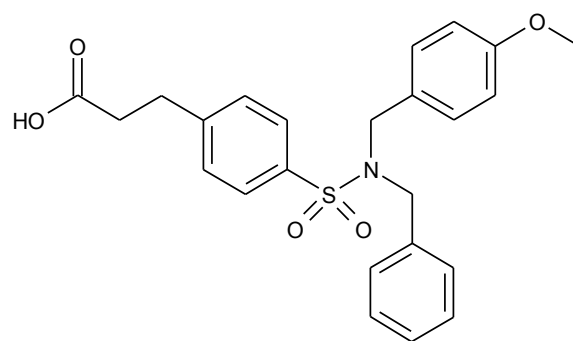
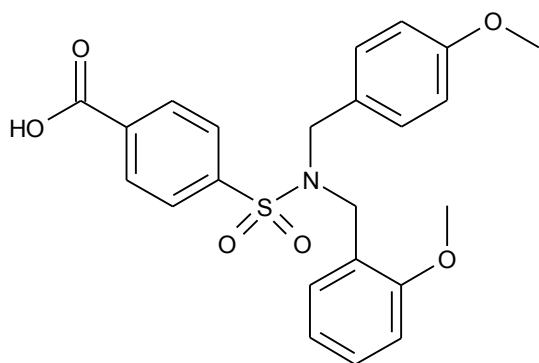
,

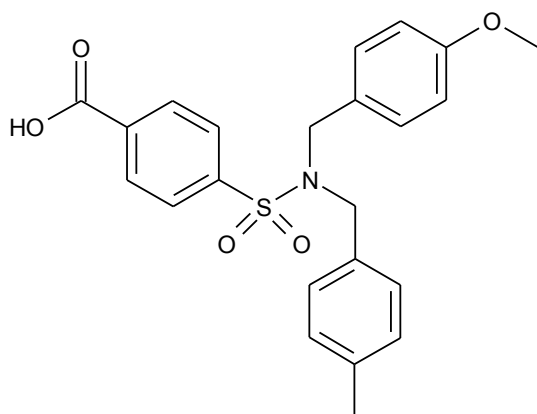


,

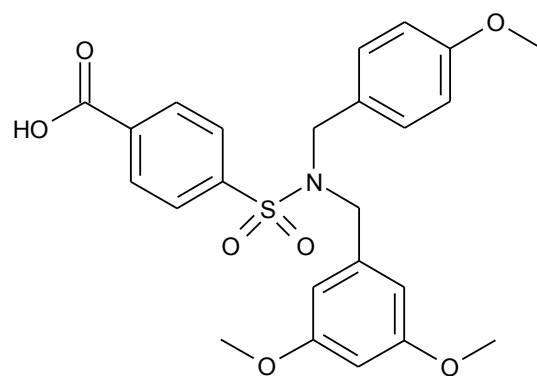


,

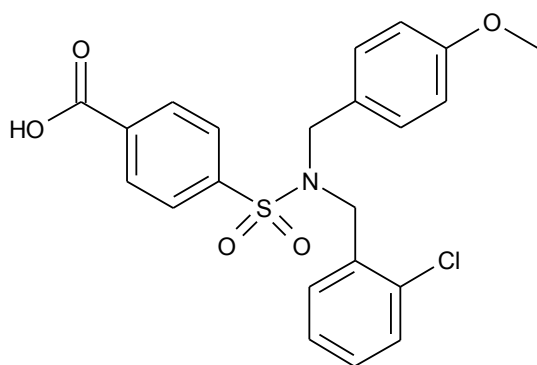




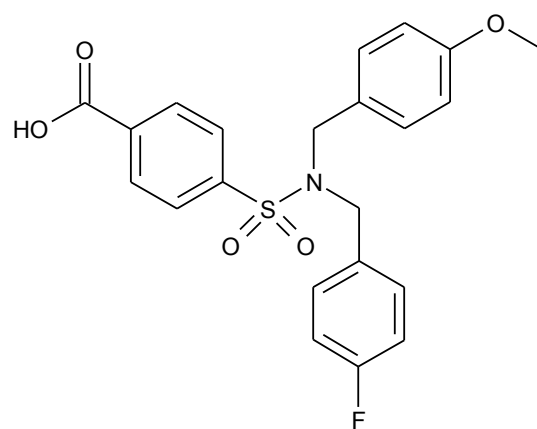
,



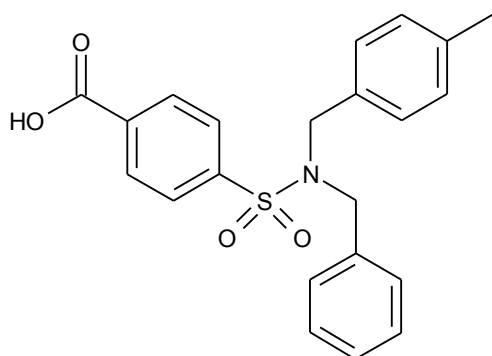
,



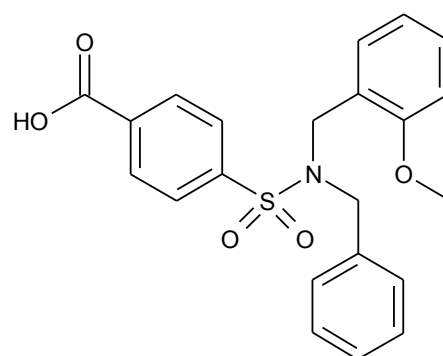
,



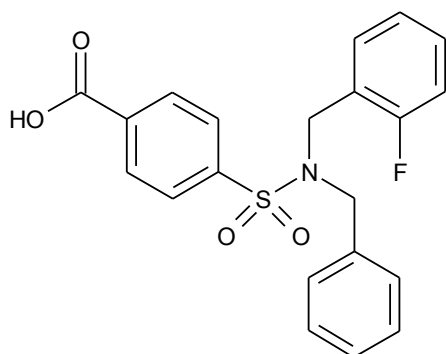
,



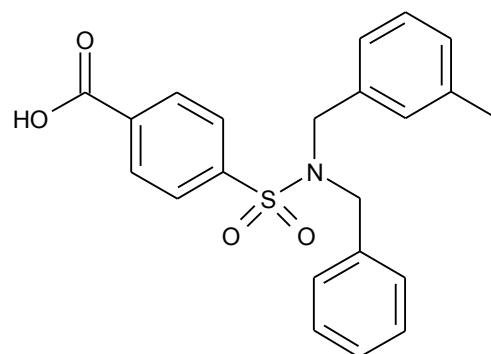
,



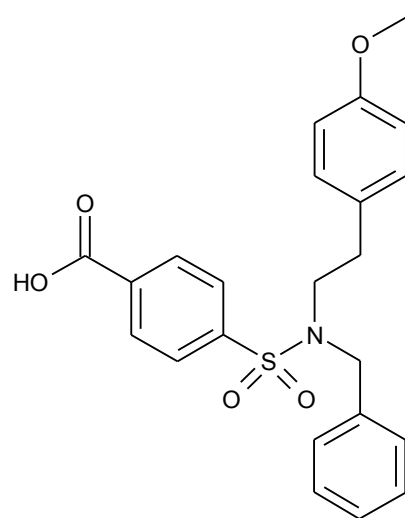
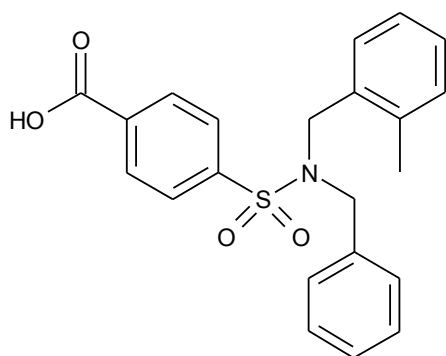
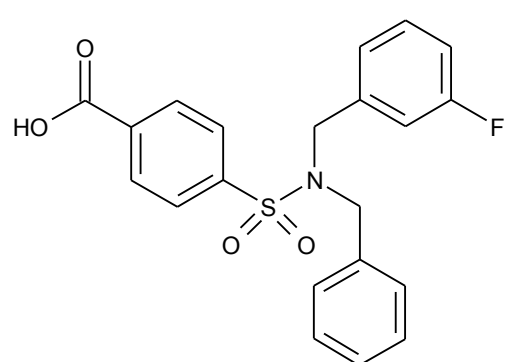
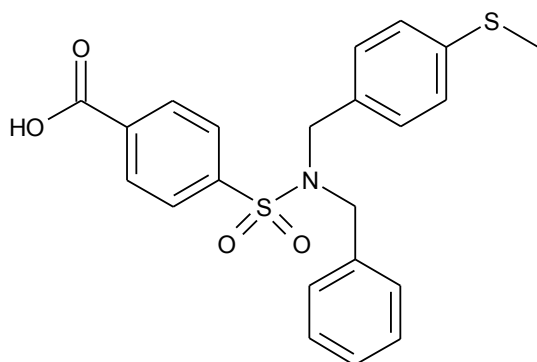
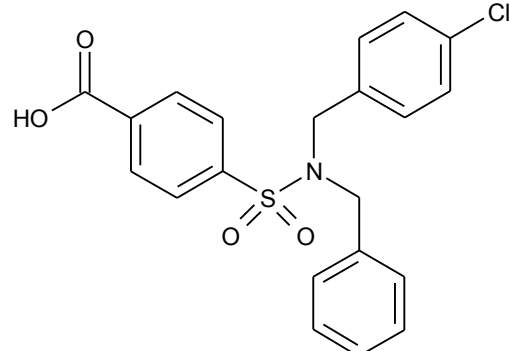
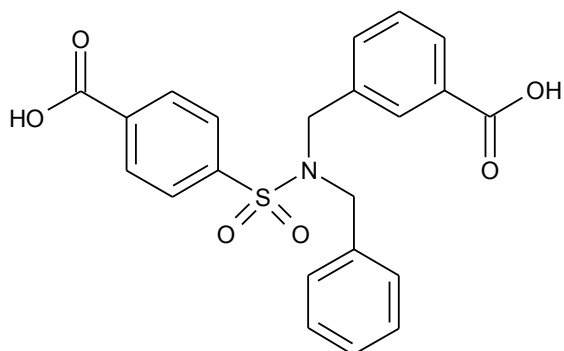
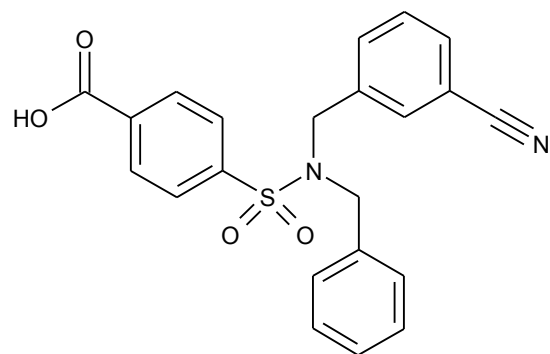
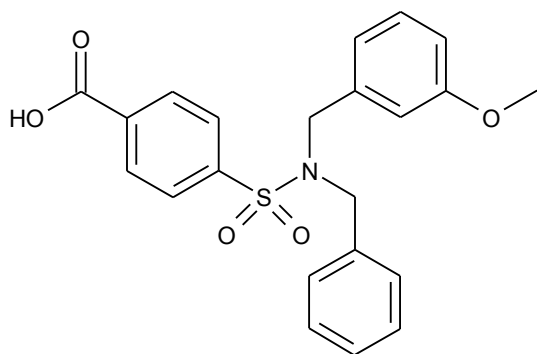
,

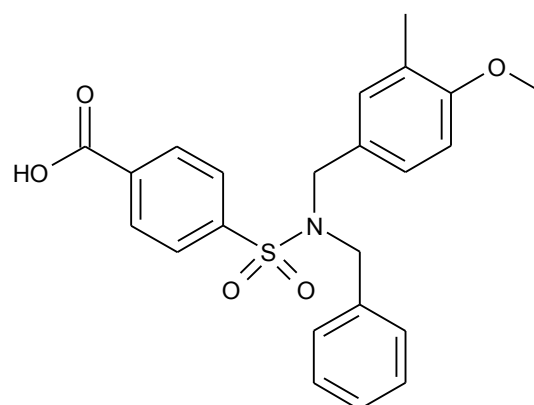
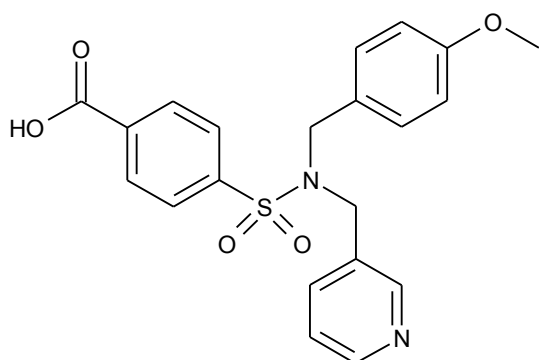
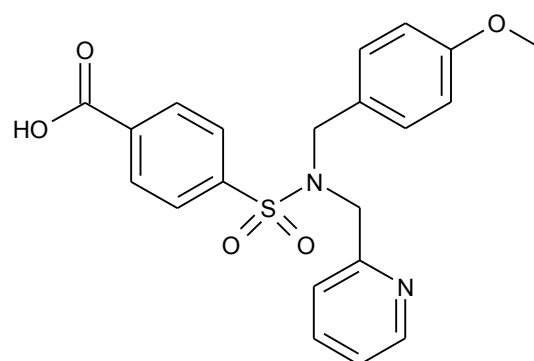
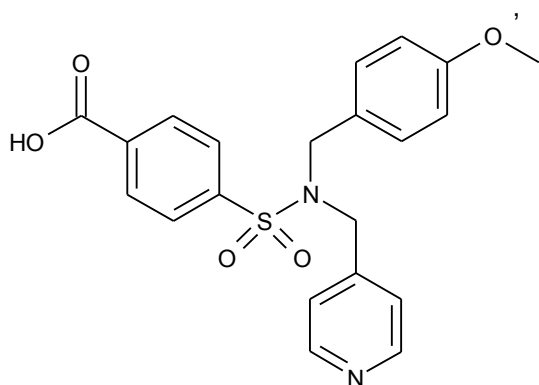
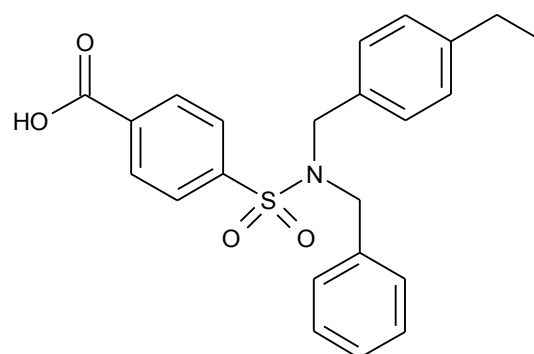
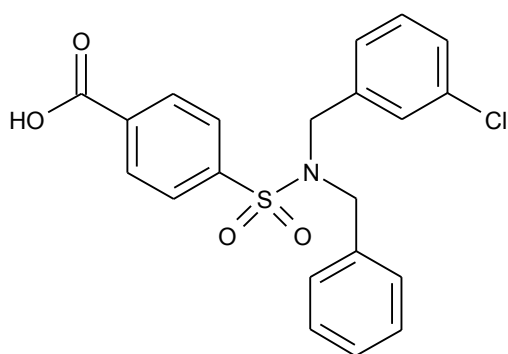
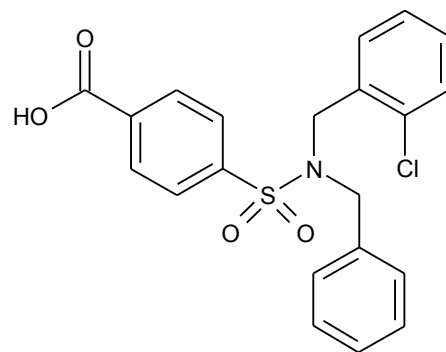
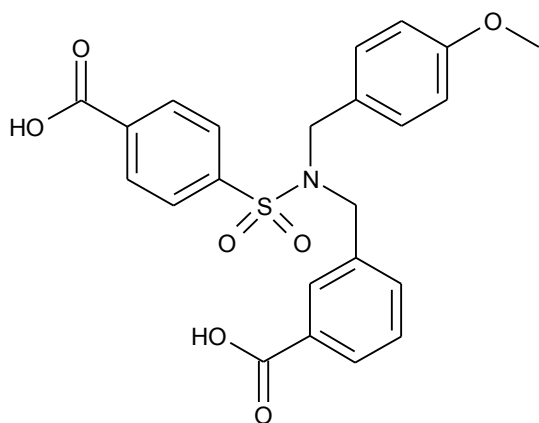


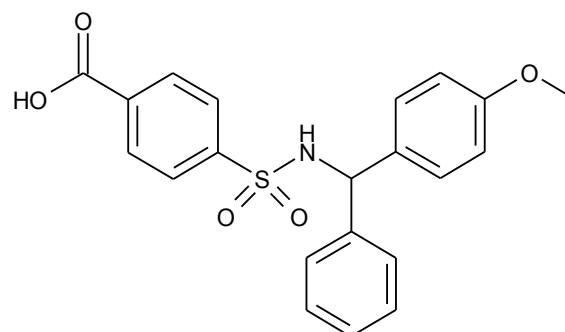
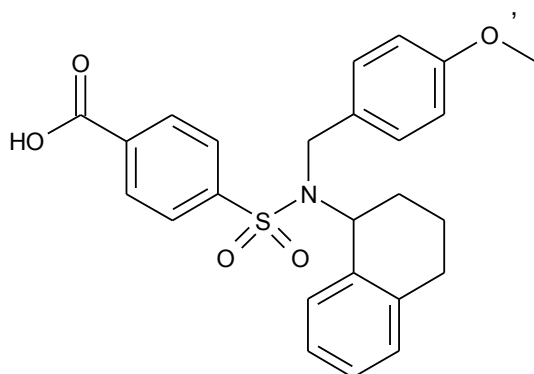
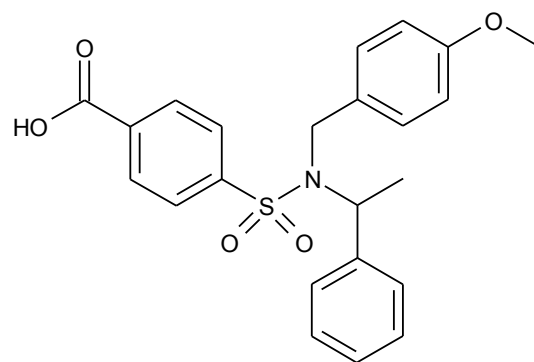
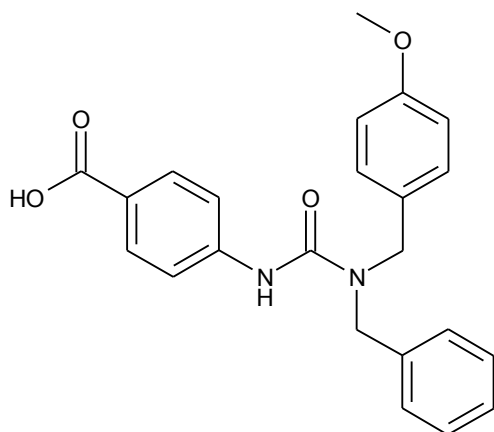
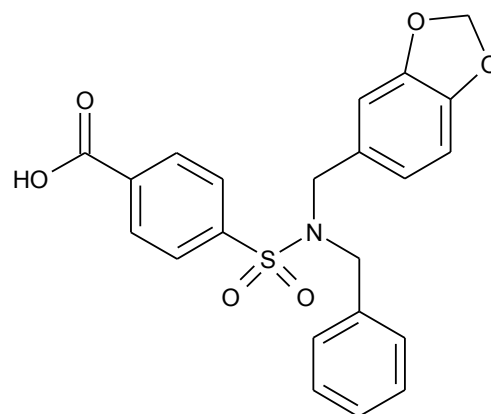
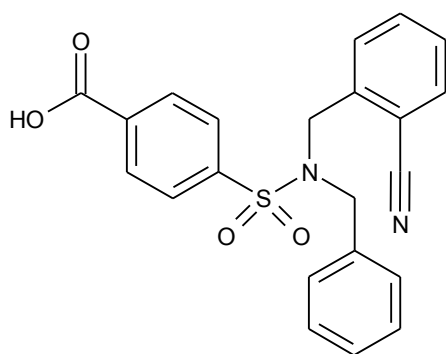
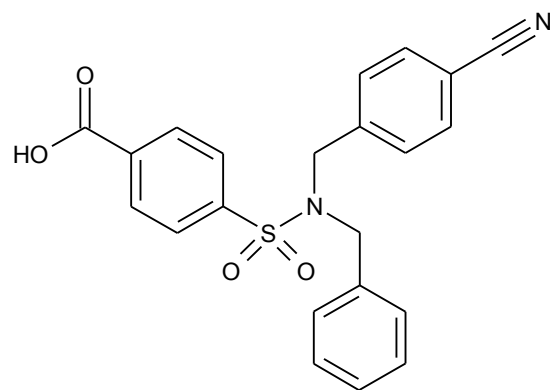
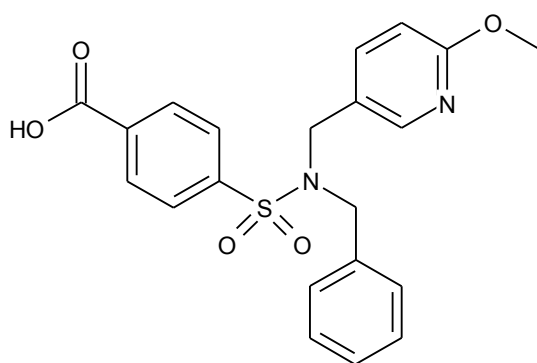
,

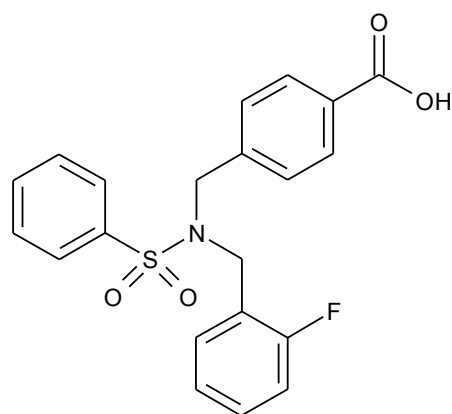
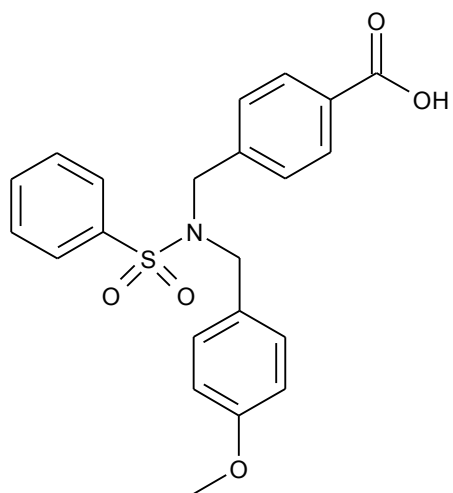
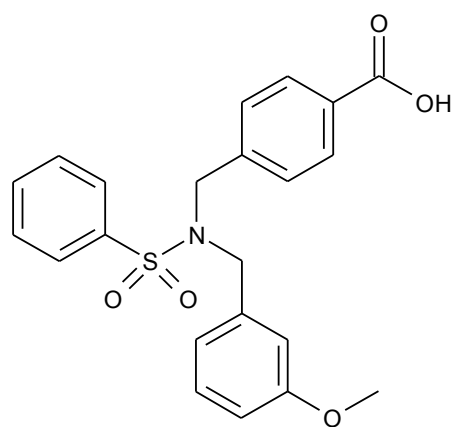
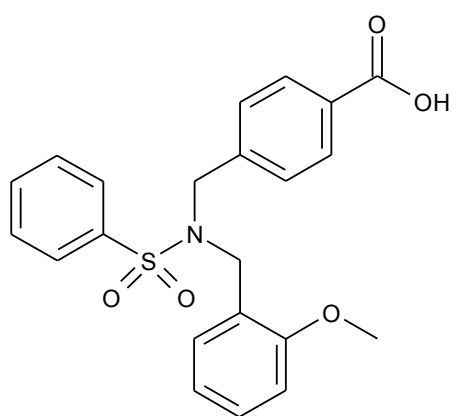
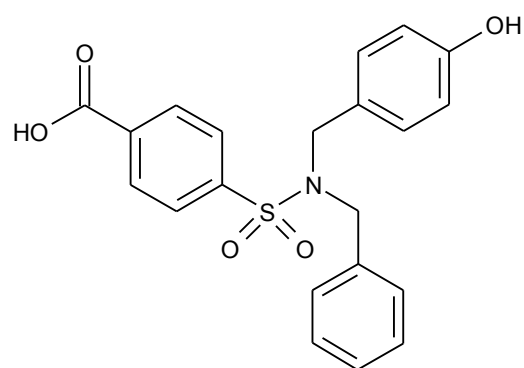
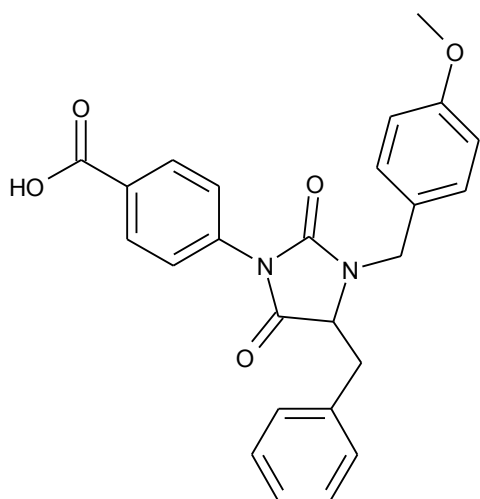


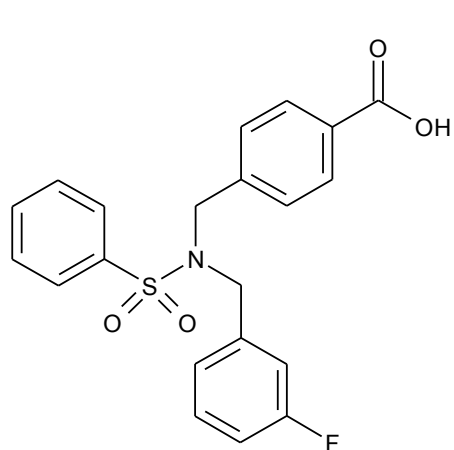
,



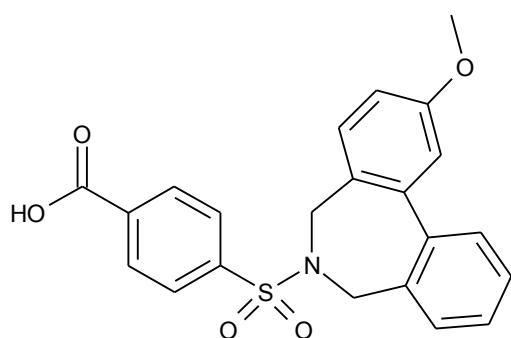
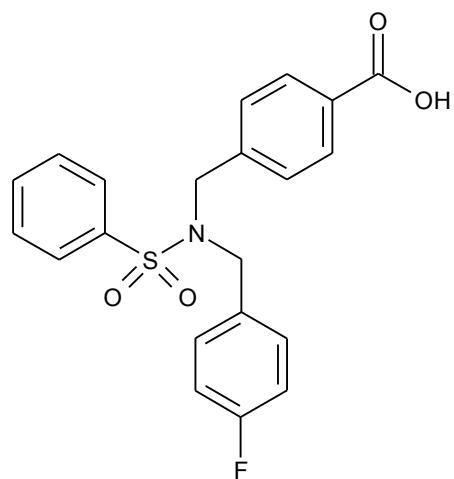




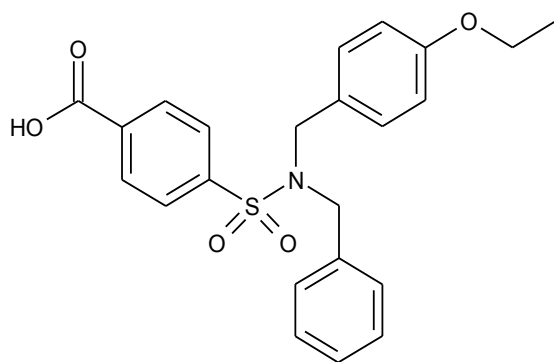
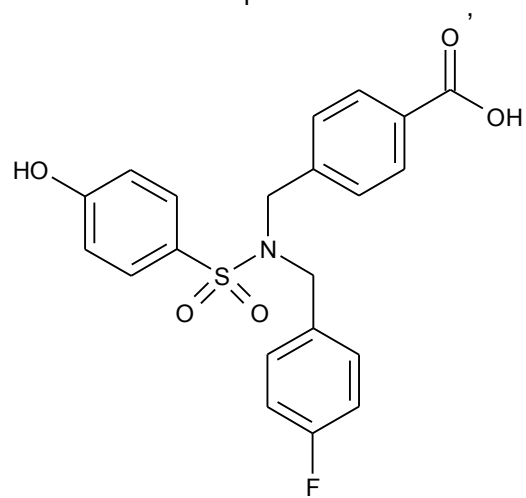




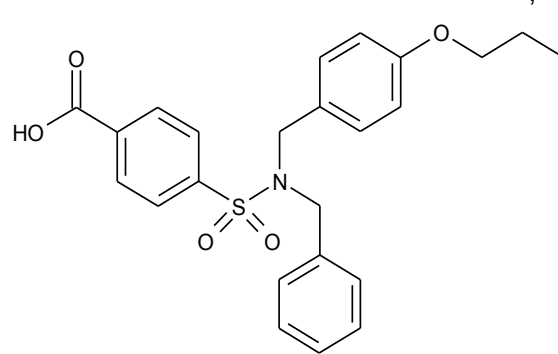
,



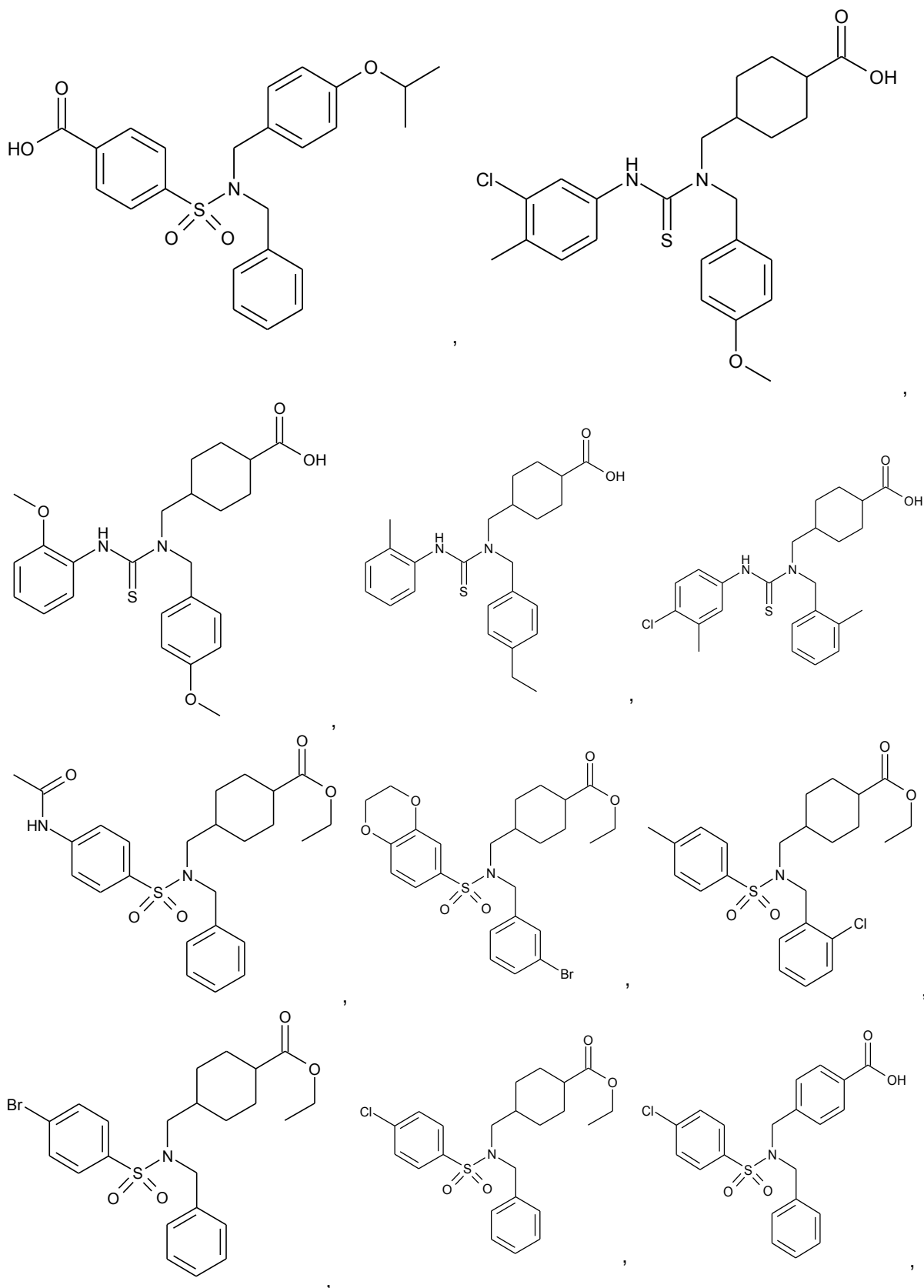
,

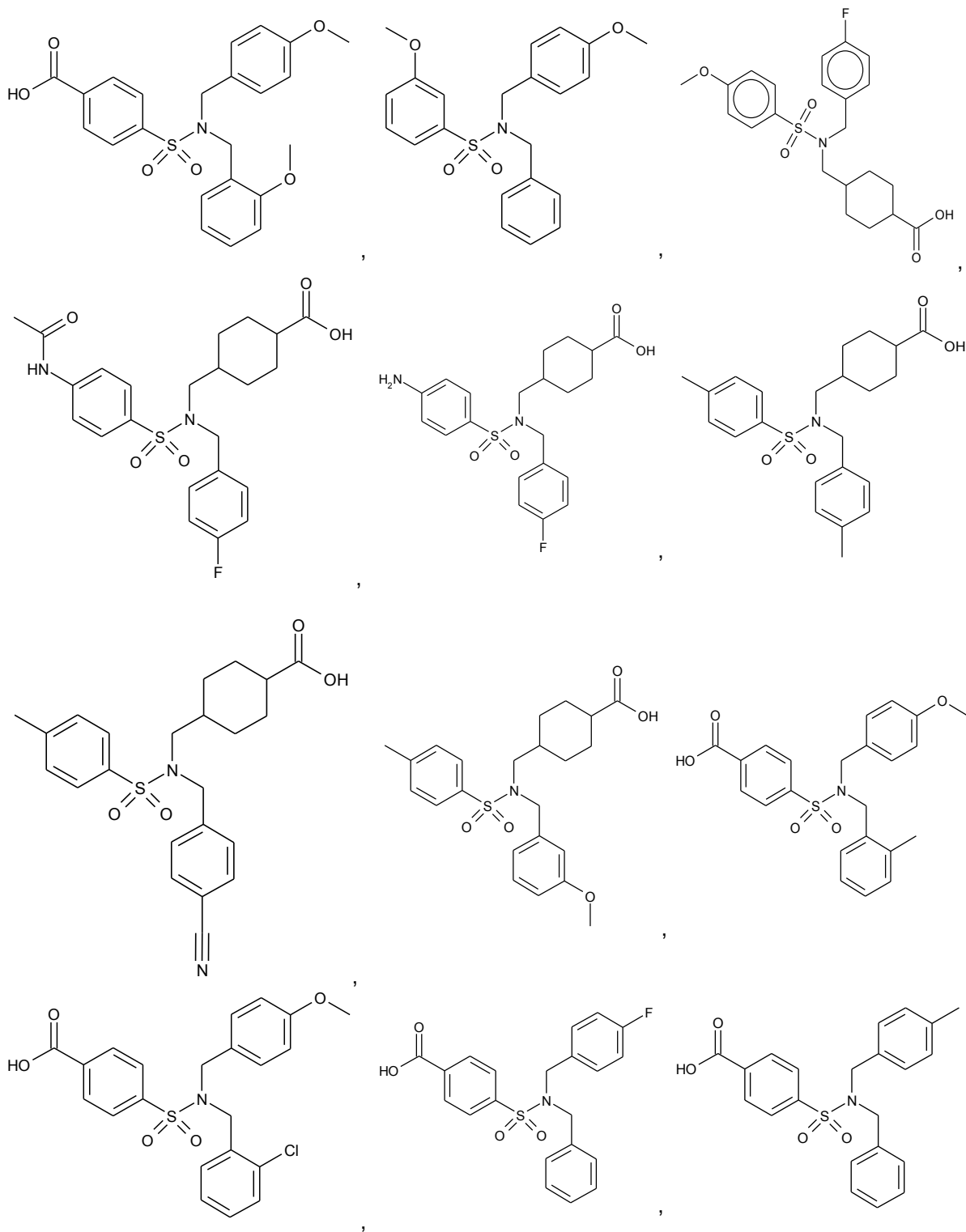


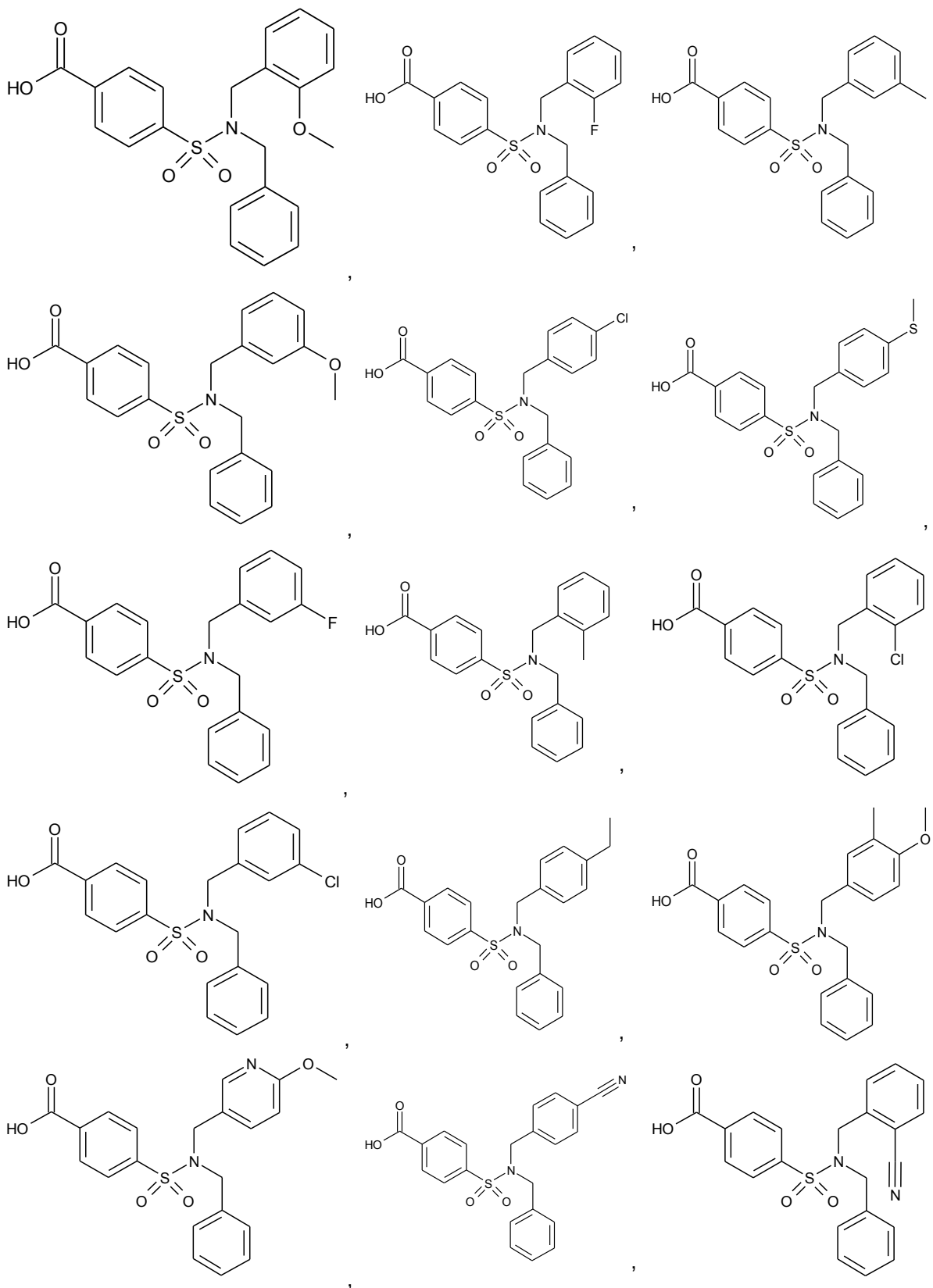
,

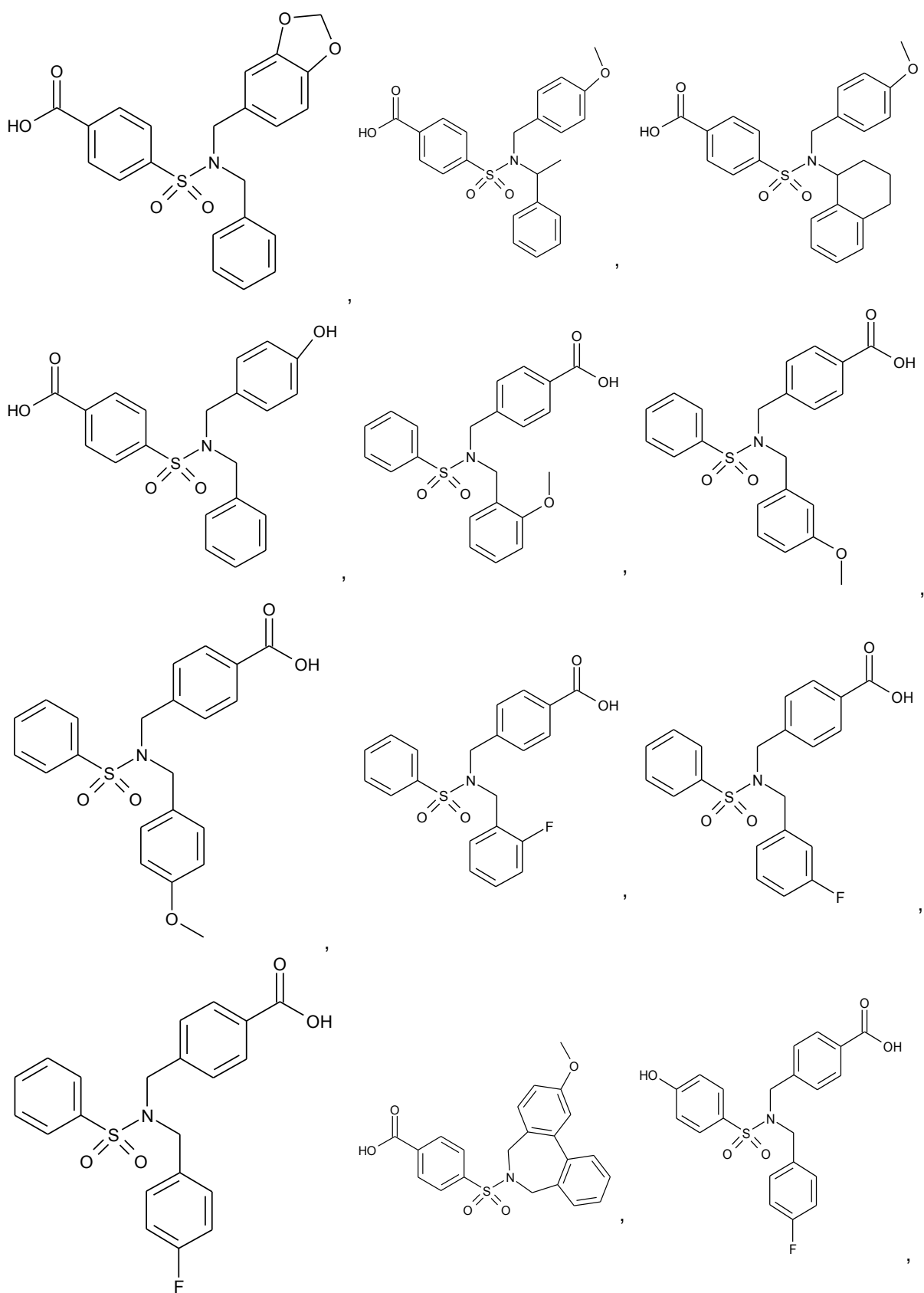


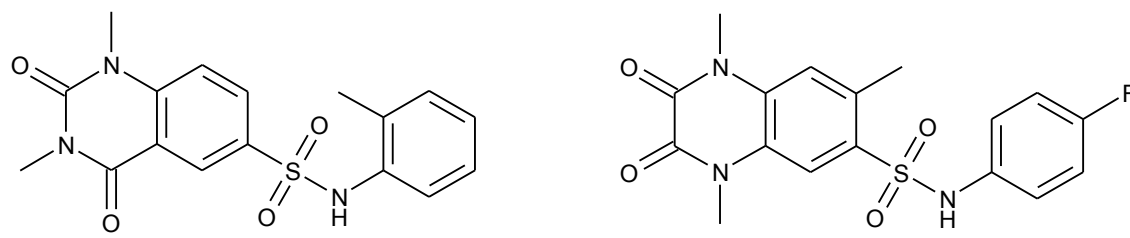
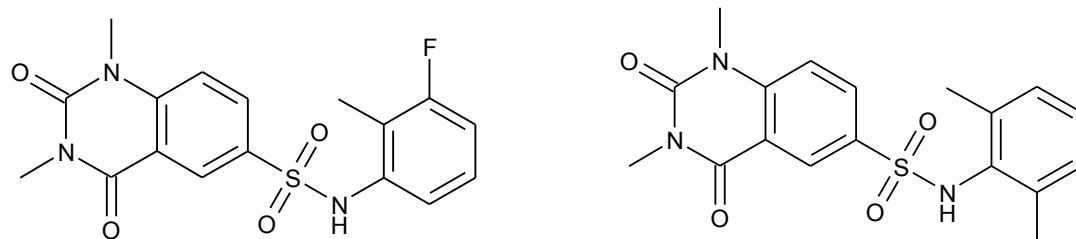
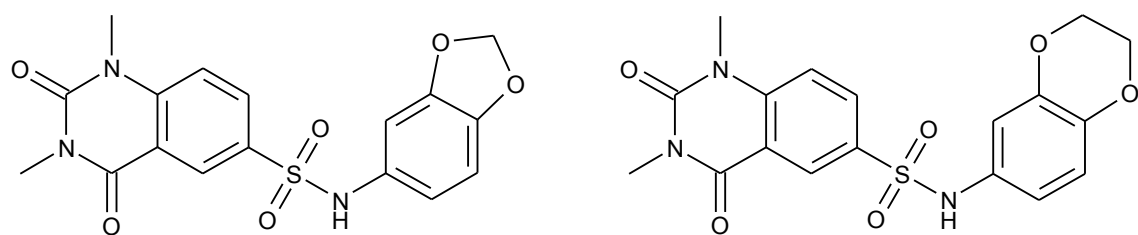
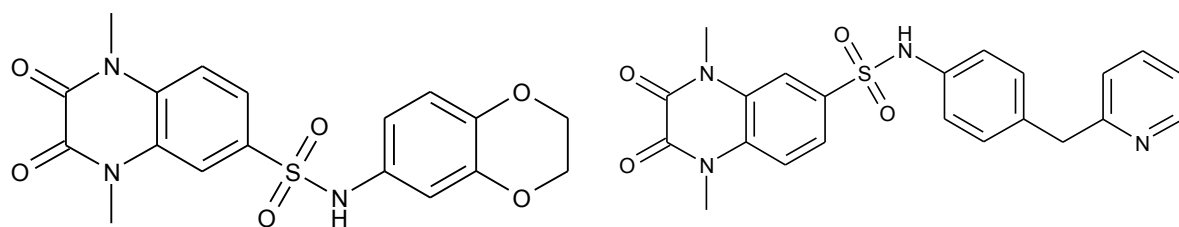
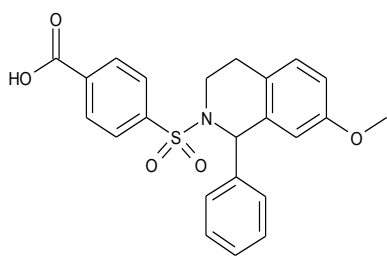
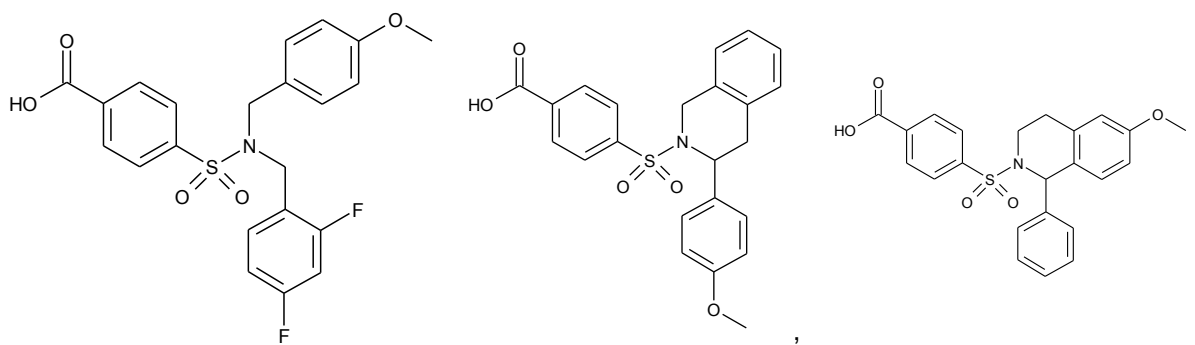
,

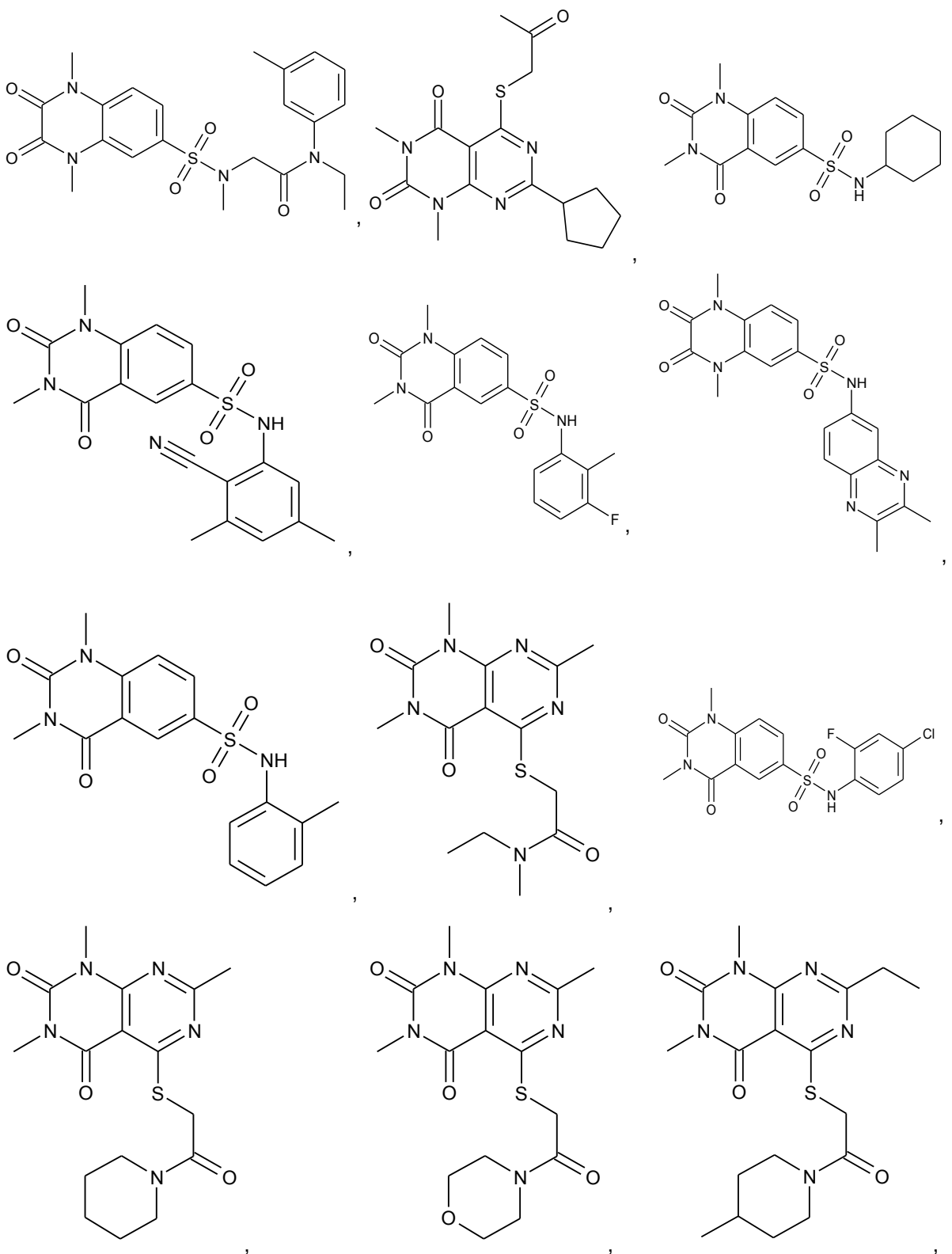


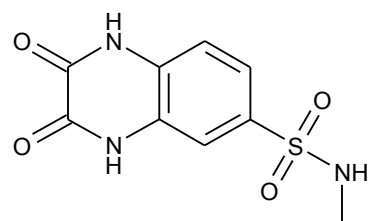
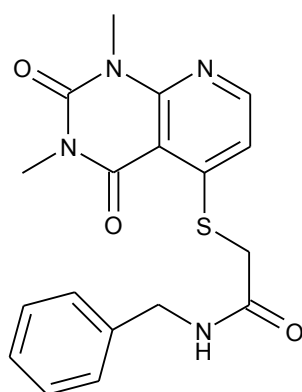
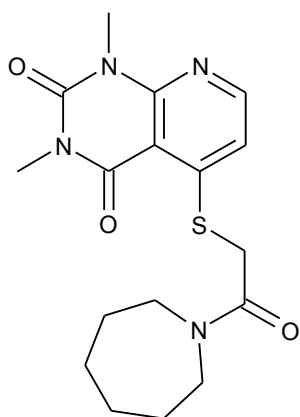
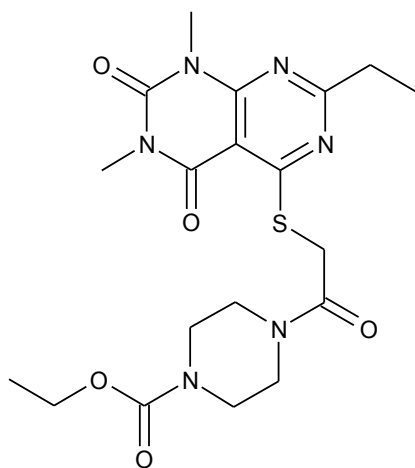




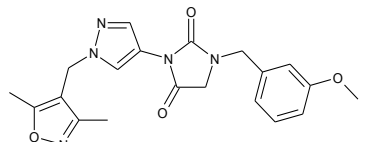
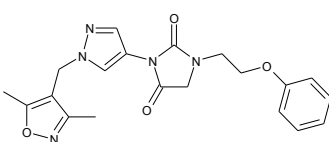
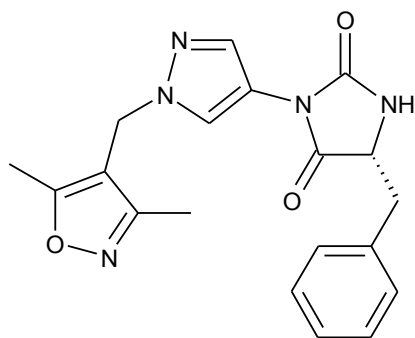
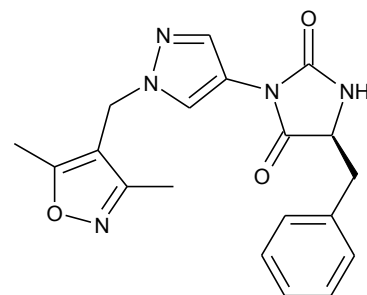
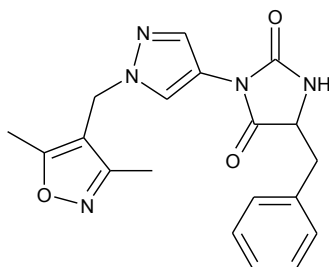
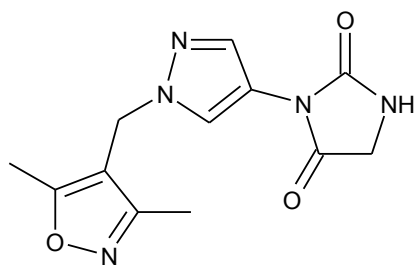


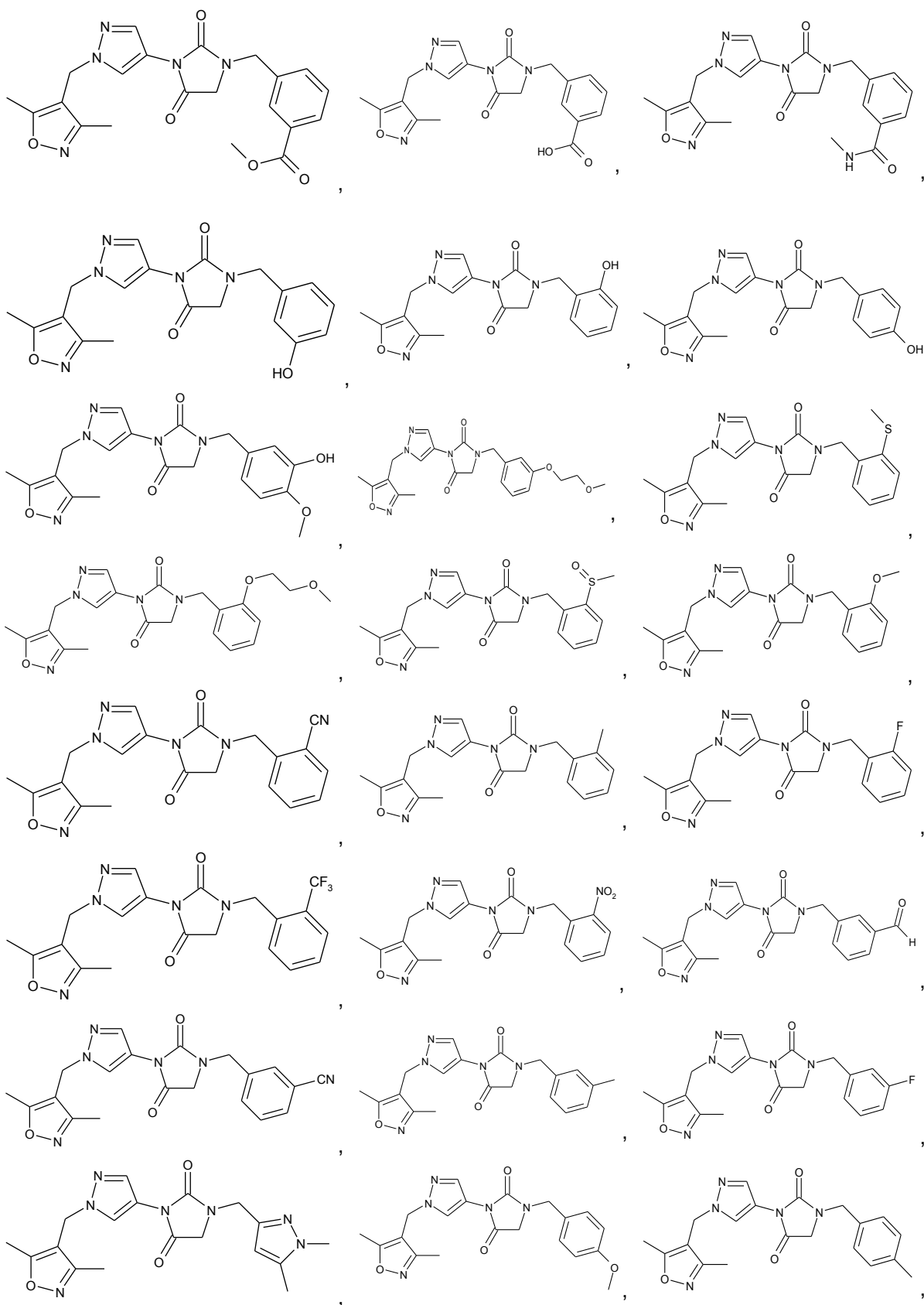


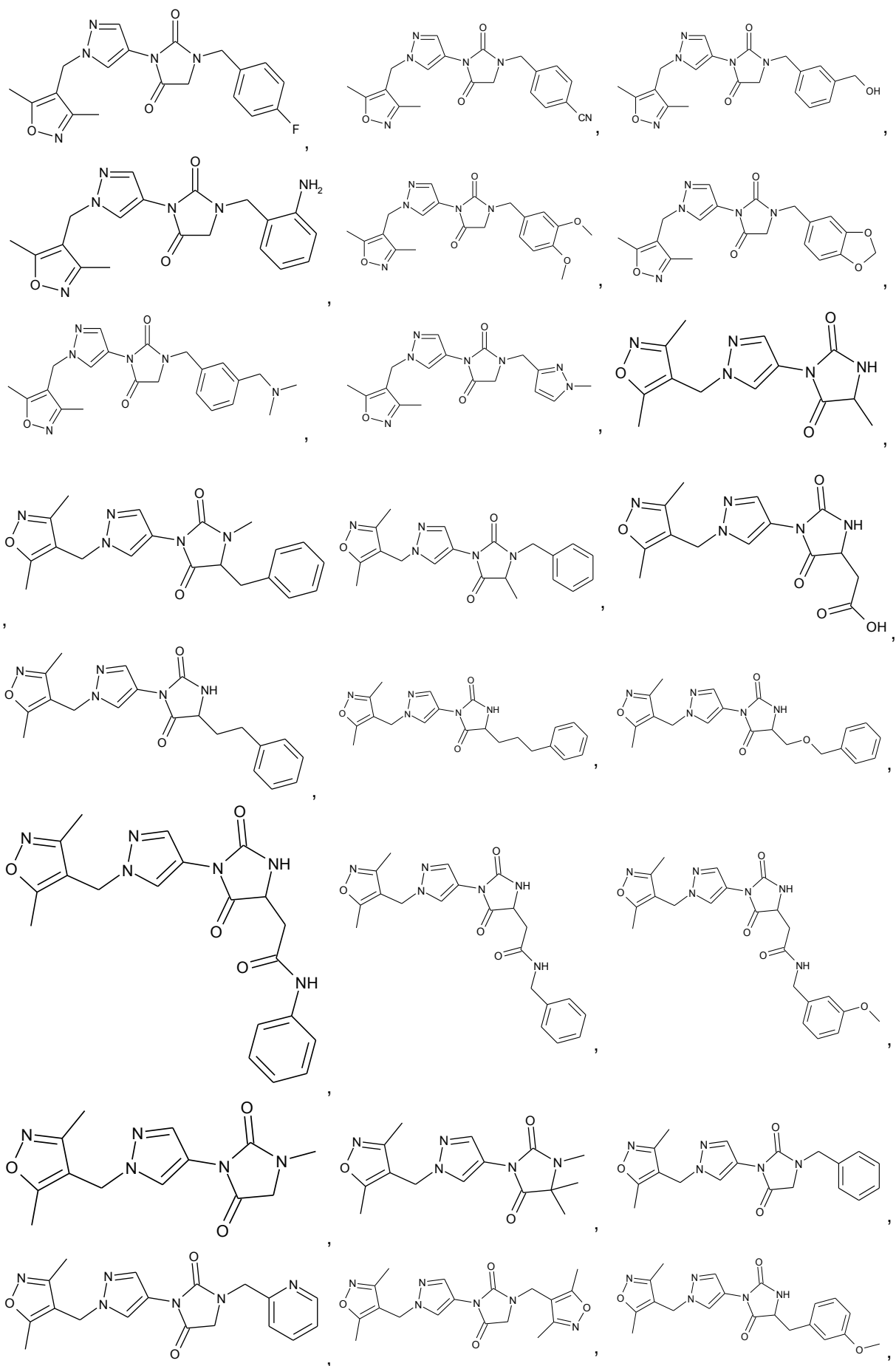


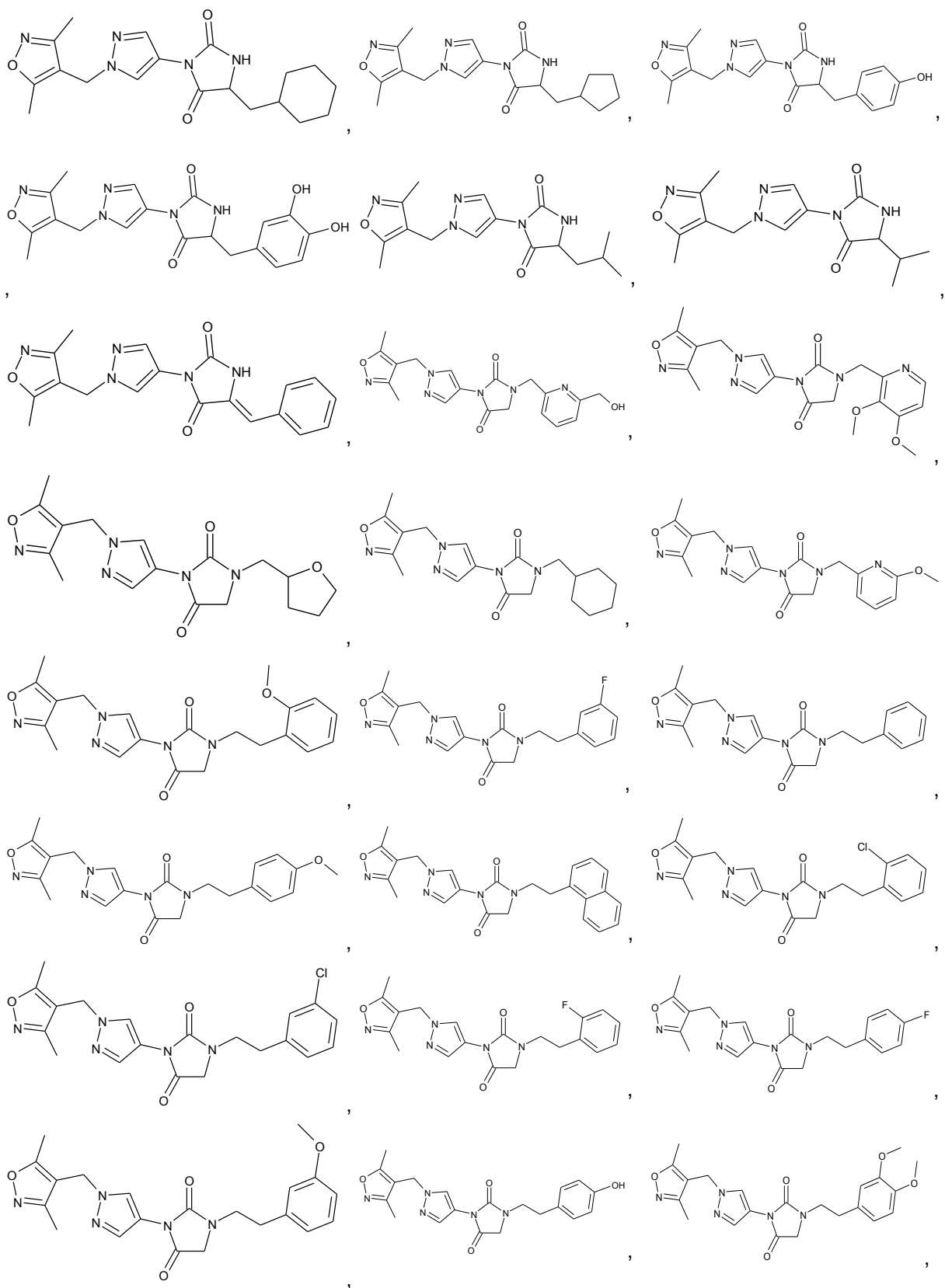


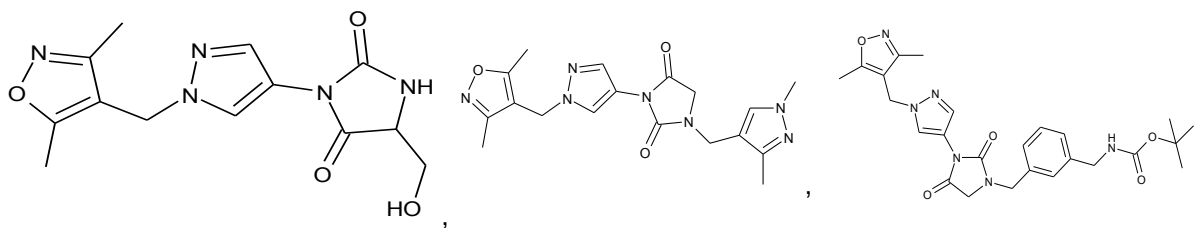
або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид.
9. Сполука за п. 1, вибрана з групи:





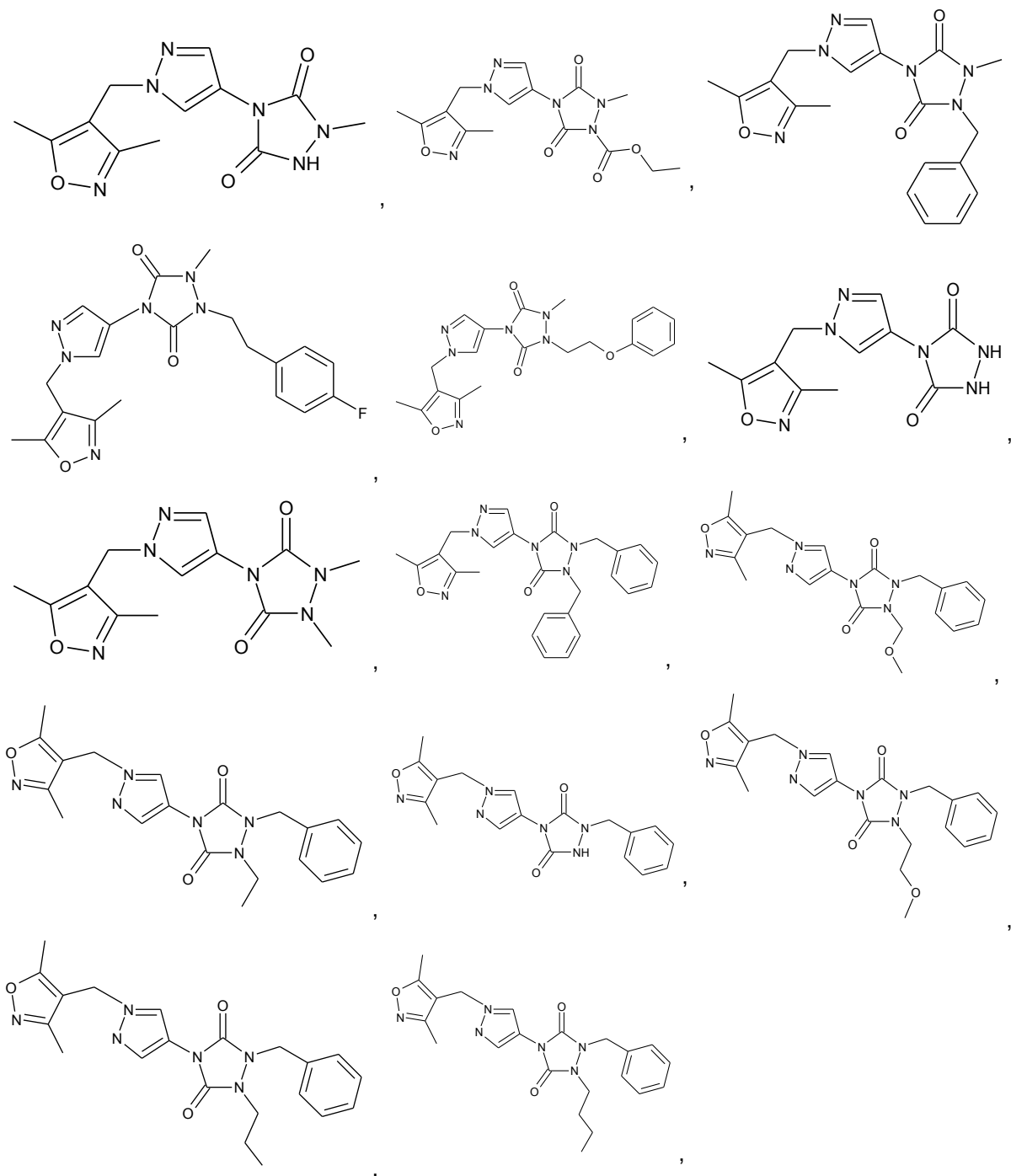






або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид.

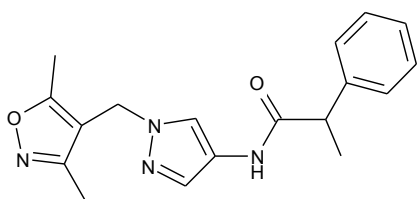
10. Сполука за п. 1, що вибрана з групи:



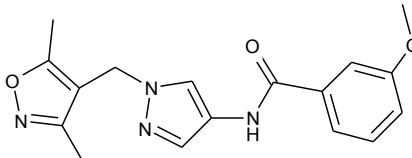
5

або її сіль, гідрат, сольват або N-оксид.

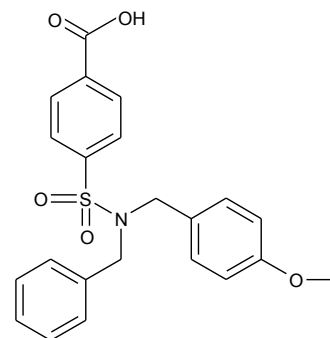
11. Сполука, що вибрана з групи:



Сполука А
IC₅₀=0,3 мкМ (hT2R08)



Сполука В
IC₅₀=0,4 мкМ (hT2R08)



Сполука С
IC₅₀=0,2 мкМ (hT2R14)

12. Спосіб ідентифікації сполуки, яка передбачувано модулює гіркий смак, пов'язаний з кавою і/або ароматизованими кавою харчовими продуктами, напоями і/або лікарськими засобами для орального застосування, що включає проведення аналізу з використанням сполук, які мають одну із структурних формул за п. 1, де вказаний аналіз являє собою скринінг сполук, що мають одну із вказаних структурних формул, які інгібують активацію людського рецептора гіркового смаку T2R, вибраного з hT2R8 і/або hT2R14, іншою гіркою сполукою або композицією, що містить вказану гірку сполуку.

13. Спосіб за п. 12, в якому рецептор має поліпептидну послідовність, яка є щонайменше на 90 % ідентичною поліпептиду hT2R8 в SEQ ID NO:4 або кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка гібридизується з послідовністю нуклеїнової кислоти SEQ ID NO:3 у жорстких умовах.

14. Спосіб за п. 12, в якому рецептор має поліпептидну послідовність, яка є щонайменше на 90 % ідентичною поліпептиду hT2R14 в SEQ ID NO:6 або кодується послідовністю нуклеїнової кислоти, яка гібридизується з послідовністю нуклеїнової кислоти SEQ ID NO:5 у жорстких умовах гібридизації.

15. Спосіб за п. 12, в якому вказаний смаковий рецептор експресований на клітинній мембрані.

16. Спосіб за п. 12, який являє собою високопродуктивний тест.

17. Спосіб за п. 12, в якому смаковий рецептор експресований клітиною HEK293, клітиною BHK, клітиною COS, клітиною HEK293T, клітиною CHO або ооцитом Xenopus.

18. Спосіб зменшення або послаблення гіркового смаку, що включає додавання щонайменше однієї сполуки за одним із пп. 1-11 або її аналога до композиції для приймання усередину людиною або твариною в концентрації, ефективній для ослаблення або зменшення гіркового смаку, пов'язаного із цією композицією.

19. Спосіб за п. 18, в якому концентрація цієї щонайменше однієї сполуки становить від приблизно 0,1 млн. частин до приблизно 100 млн. частин.

20. Спосіб за п. 18, в якому концентрація цієї щонайменше однієї сполуки становить від приблизно 1 млн. частин до приблизно 25 млн. частин.

21. Спосіб за п. 18, в якому композиція являє собою харчовий продукт, напій або лікарський засіб.

22. Спосіб за п. 18, в якому композиція містить гіркі сполуки, які активують один або більше із hT2R3, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 65, 71 і/або hT2R5, 9, 13, 54, 67 і 75.

23. Спосіб за п. 18, в якому композиція містить щонайменше одну гірку сполуку, яка активує множинні рецептори гіркового смаку або яка має невизначену специфічність до рецепторів гіркового смаку.

24. Спосіб за п. 18, в якому композиція являє собою каву або композицію, ароматизовану кавою.

25. Спосіб за п. 24, в якому композиція містить не менше 2 сполук, щонайменше одна з яких є антагоністом hT2R8 і щонайменше одна з яких є антагоністом hT2R14.

26. Спосіб за п. 24, в якому кава або ароматизована кавою композиція являє собою швидкорозчинну каву або зварену каву.

27. Композиція харчового продукту, напою або лікарського засобу для орального застосування, що містить щонайменше одну сполуку за п. 1, яка блокує гіркий смак, викликаний одним або більше людськими рецепторами гіркового смаку T2R.

28. Композиція за п. 27, яка являє собою каву або ароматизовану кавою композицію харчового продукту або напою.

29. Композиція за п. 27, яка містить не менше 2 сполук, щонайменше одна з яких є антагоністом hT2R8 і щонайменше одна з яких є антагоністом hT2R14.

30. Композиція за п. 27, яка являє собою готовий до вживання, розчинний і сухий кавовий напій, суміш кавового напою або концентрат кавового напою.

5 31. Композиція за п. 27, яка являє собою замітник вершків на молочній основі, немолочний замітник вершків або забілювач для кавових напоїв.

32. Композиція за п. 27, яка являє собою добавку, нутрицевтик, функціональний продукт харчування, фармацевтичний препарат, що відпускається без рецепта, продукт для догляду за порожниною рота або косметичний продукт.

10 33. Композиція за п. 32, де продукт для догляду за порожниною рота являє собою засіб для догляду за зубами, рідину для полоскання рота або жувальну гумку.

34. Спосіб виявлення або кількісного аналізу можливого блокування гіркового смаку гіркої сполуки в композиції сполукою за одним із пп. 1-11, причому в зазначеному способі здійснюють контактування композиції, що містить щонайменше одну гірку сполуку, яка активує щонайменше

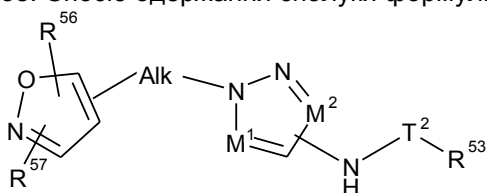
15 один людський рецептор гіркового смаку, вибраний із групи, що складається з hT23, 7, 10, 14, 16, 44, 51, 55, 61, 63, 64, 65 або 71 і/або hT2R5, 9, 13, 54, 67 і 75, і виявлення того, чи є активація зазначеного щонайменше одного рецептора блокованою або інгібованою сполукою за одним із пп. 1-11, де зазначене блокування або інгібування послаблює гіркий смак щонайменше однієї гіркої сполуки.

20 35. Спосіб за п. 34, що додатково включає смаковий тест, в якому гірку сполуку і зазначену сполуку-антагоніст пробують на смак окремо і у комбінації, щоб підтвердити те, що гіркий смак послаблений антагоністом.

36. Спосіб за п. 34, який являє собою високопродуктивний аналіз.

25 37. Спосіб ідентифікації консервативного мотиву зв'язування в різних формах людських T2R, в якому здійснюють вплив сполуки за одним із пп. 1-11 на клітинну мембрану клітини.

38. Спосіб одержання сполуки формули



або її солі, гідрату, сольвату, N-оксиду,

де Alk являє собою алкільну групу, що, необов'язково, переривається гетероатомом;

30 T² являє собою C=S, C=O або S(O)₂;

R⁵³ являє собою заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений арил або заміщений або незаміщений арилалкіл;

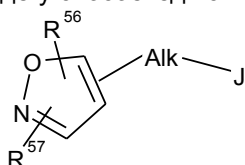
M¹ являє собою N або CR⁵⁴, де R⁵⁴ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

35 M² являє собою N або CR⁵⁵, де R⁵⁵ являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

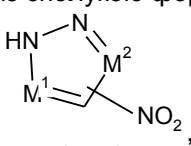
R⁵⁶ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

R⁵⁷ являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

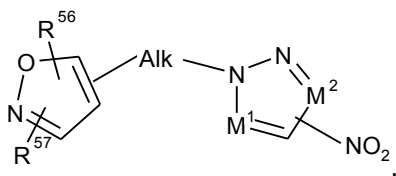
40 де у способі здійснюють взаємодію сполуки формули:



де R⁵⁶, R⁵⁷ і Alk визначені вище і J являє собою відхідну групу; із сполукою формули:



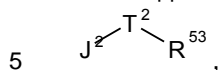
45 де M¹ і M² визначені вище, з одержанням сполуки формули:



що має групу NO_2 ;

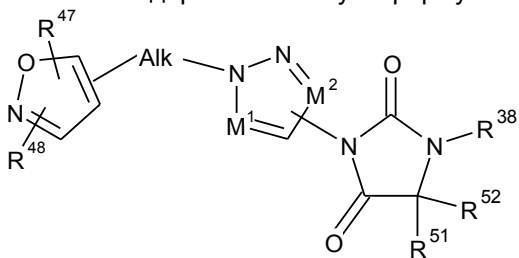
відновлення групи NO_2 з одержанням сполуки, що має групу NH_2 ; і

взаємодію сполуки, що має групу NH_2 , зі сполукою формули:



де J^2 являє собою відхідну групу і T^2 і R^{53} визначені вище.

39. Спосіб одержання сполуки формули



або її солі, гідрату, сольвату, N-оксиду,

10 де Alk являє собою алکیلну групу, що, необов'язково, переривається гетероатомом;

R^{51} і R^{52} , будучи однаковими або різними, незалежно один від іншого, являють собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галогеналкіл, або R^{51} і R^{52} , разом з вуглецевим атомом, до якого вони приєднані, утворюють заміщену або незаміщену алкенільну групу;

20 M^1 являє собою N або CR^{49} , де R^{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

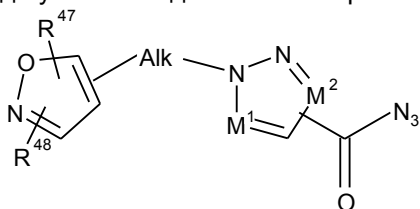
M^2 являє собою N або CR^{50} , де R^{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщений або незаміщений арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галогеналкіл;

R^{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

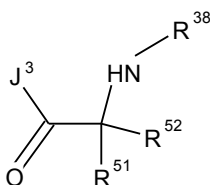
30 R^{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

де у способі здійснюють нагрівання сполуки формули:



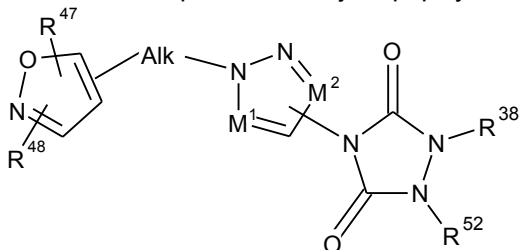
де R^{47} , R^{48} , Alk, M^1 і M^2 визначені вище;

35 для перетворення групи $-\text{CON}_3$ у групу $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ і наступної взаємодії зі сполукою формули:



де J^3 являє собою відхідну групу і R^{38} , R^{51} і R^{52} визначені вище.

40. Спосіб одержання сполуки формули



5 або її солі, гідрату, сольвату, N-оксиду,

де Alk являє собою алкільну групу, що, необов'язково, переривається гетероатомом;

R^{52} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл, галоїдний алкіл;

M^1 являє собою N або CR^{49} , де R^{49} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

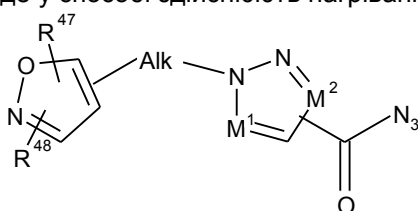
15 M^2 являє собою N або CR^{50} , де R^{50} являє собою H або заміщений або незаміщений алкіл;

R^{38} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений гетероциклоалкілалкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений ариламідолалкіл, заміщений або незаміщений гетероарилалкіламідолалкіл, заміщений або незаміщений арилалкіл, заміщену або незаміщену арилалкоксигрупу, заміщений або незаміщений гетероарил, заміщений або незаміщений гетероарилалкіл або галогеналкіл;

R^{47} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген; і

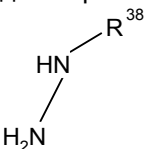
R^{48} являє собою H, заміщений або незаміщений алкіл, заміщену або незаміщену алкоксигрупу, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений арилалкіл або галоген;

25 де у способі здійснюють нагрівання сполуки формули:



де R^{47} , R^{48} , Alk, M^1 і M^2 визначені вище;

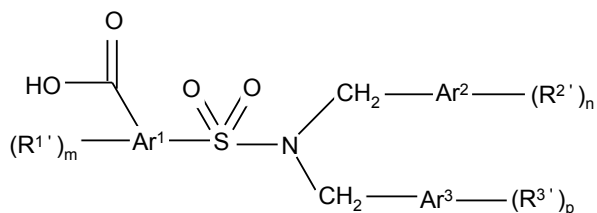
для перетворення групи $-CON_3$ у групу $-N=C=O$ і наступної взаємодії з гідратином формули:



30

де R^{38} визначений вище.

41. Спосіб одержання сполуки формули



(III)

або її солі, гідрату, сольвату або N-оксиду, де

Ar¹, Ar² і Ar³ незалежно являють собою п'яти- або шестичленне арильне, гетероарильне або циклоалкільне кільце і Ar² і Ar³ можуть бути, необов'язково, опущені;

5 m дорівнює 0, 1, 2 або 3;

n і p незалежно дорівнюють 0, 1, 2, 3 або 4;

кожний R^{1'} є незалежно вибраним із групи, що складається з водню, галогену, алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, арилалкілу, заміщеного арилалкілу, ацилу, заміщеного ацилу, гетероалкілу, заміщеного гетероалкілу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилалкілу, заміщеного гетероарилалкілу, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

10

кожний R^{2'} є незалежно вибраним із групи, що складається з водню, галогену, алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, арилалкілу, заміщеного арилалкілу, ацилу, заміщеного ацилу, гетероалкілу, заміщеного гетероалкілу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилалкілу, заміщеного гетероарилалкілу, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

15

кожний R^{3'} є незалежно вибраним із групи, що складається з водню, галогену, алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, арилалкілу, заміщеного арилалкілу, ацилу, заміщеного ацилу, гетероалкілу, заміщеного гетероалкілу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилалкілу, заміщеного гетероарилалкілу, CN, NO₂, OR⁶, S(O)_bR⁶, NR⁶R⁷, CONR⁶R⁷, CO₂R⁶, NR⁶CO₂R⁷, NR⁶CONR⁷R⁸, NR⁶CSNR⁷R⁸, NR⁶C(=NH)NR⁷R⁸, SO₂NR⁵R⁶, NR⁵SO₂R⁶, NR⁵SO₂NR⁶R⁷, B(OR⁵)(OR⁶), P(O)(OR⁵)(OR⁶) і P(O)(R⁵)(OR⁶);

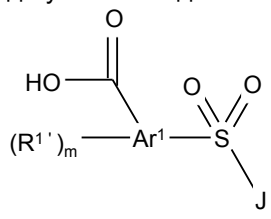
20

R⁵-R⁸ незалежно являють собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, заміщений арил, арилалкіл, заміщений арилалкіл, гетероалкіл, заміщений гетероалкіл, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероарилалкіл або заміщений гетероарилалкіл, або, альтернативно, R⁶ і R⁷, R⁷ і R⁸, разом з атомами, з якими вони зв'язані, утворюють циклогетероалкільне або заміщене циклогетероалкільне кільце;

25

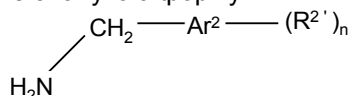
30

де у способі здійснюють взаємодію сполуки формули:



де J являє собою відхідну групу;

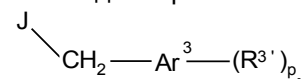
із сполукою формули:



35

з утворенням продукту; і

взаємодію отриманого продукту зі сполукою формули:

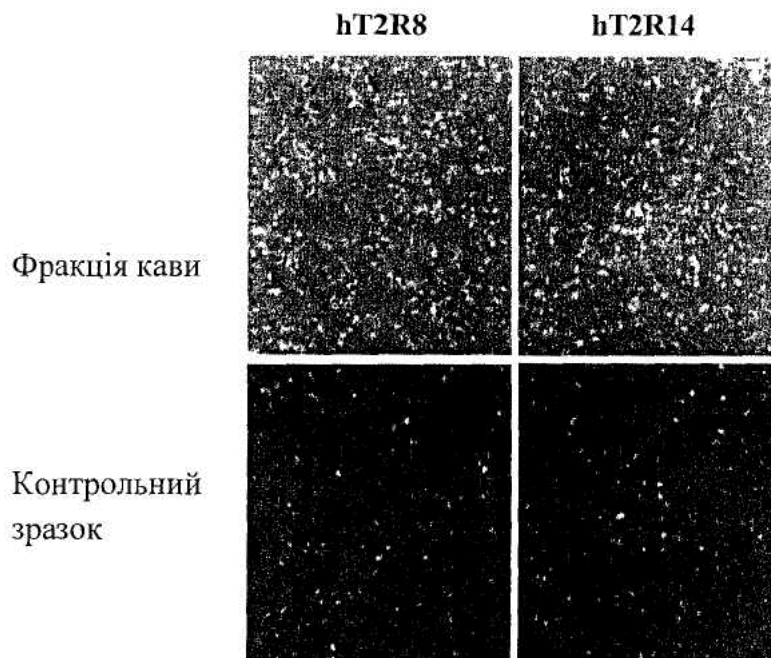


де J являє собою відхідну групу.

hT2R8 і hT2R14, активовані гіркою фракцією кави

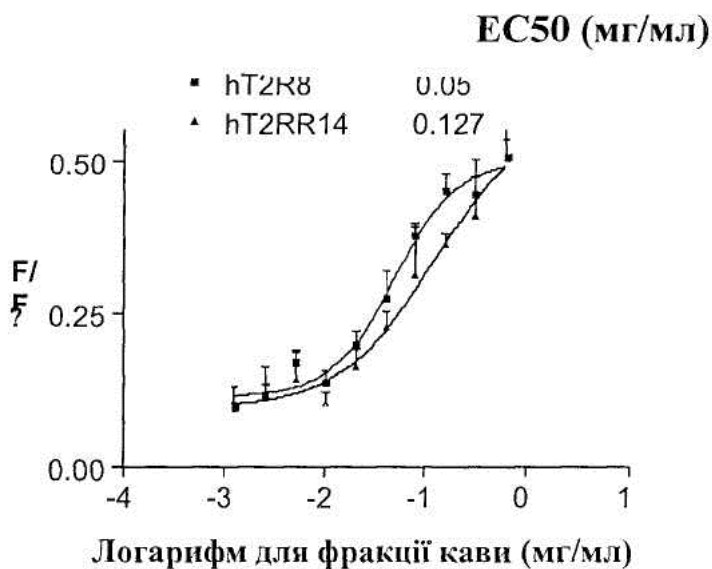
[Фракція кави] = 1 мг/мл

Синій фарбник = 19 мМ FD&C1



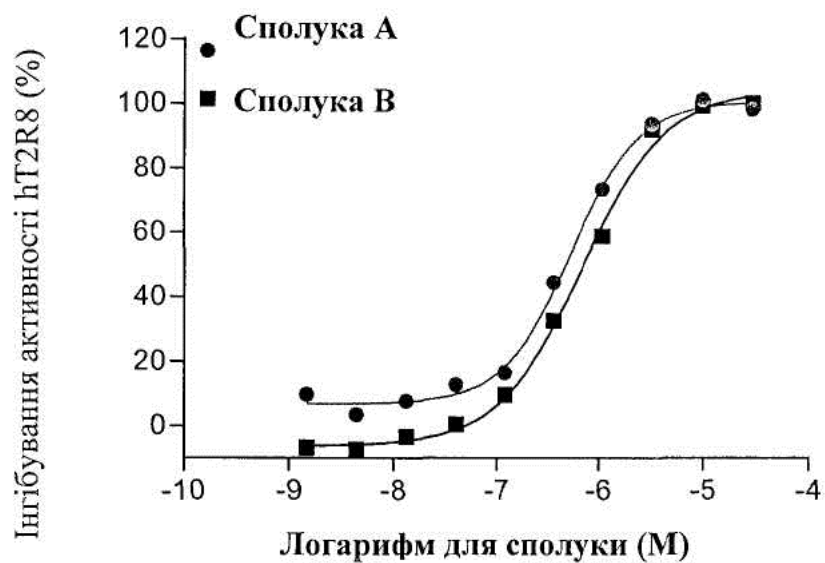
Фіг.1

Дозозалежна відповідь hT2R8 і hT2R14 на фракцію кави



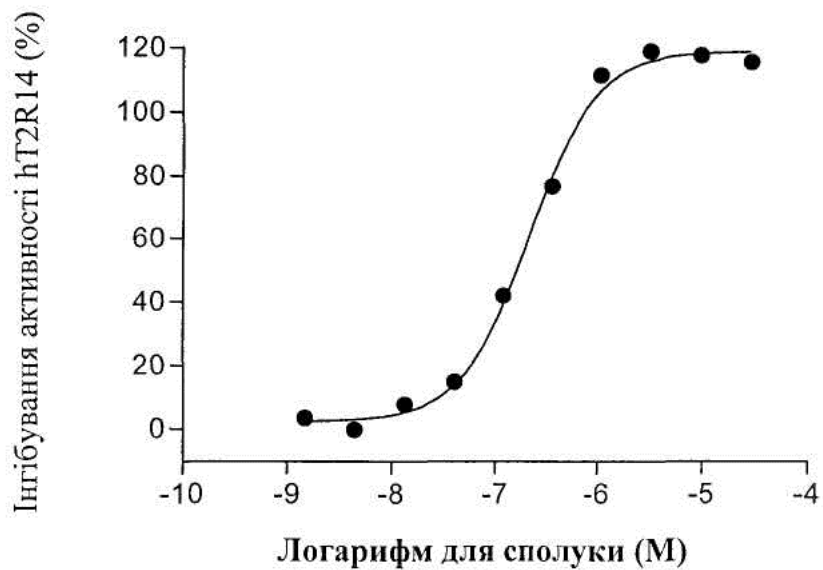
Фіг.2

Криві дозозалежного інгібування для сполуки А і В в стабільній клітинній лінії hT2R8



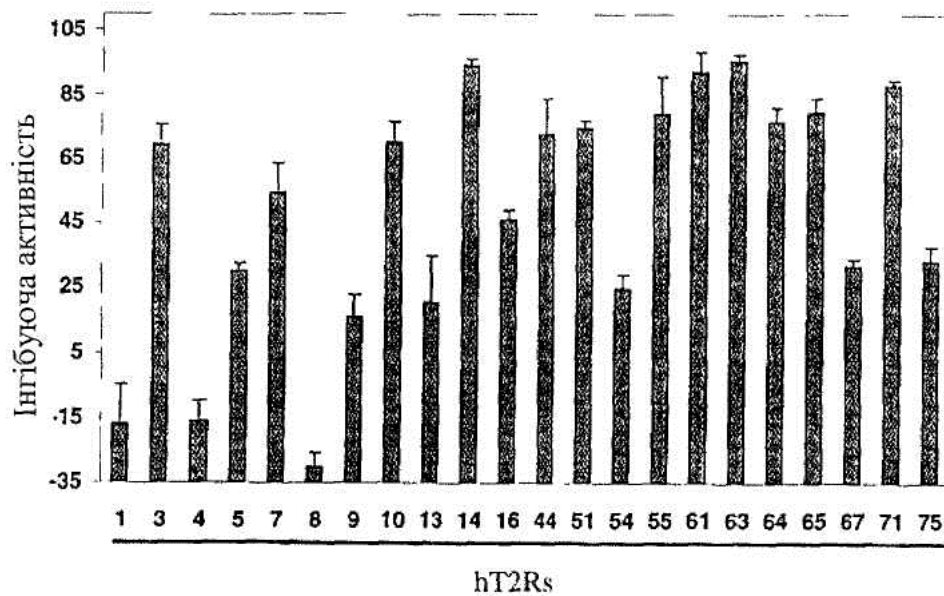
Фіг.3

Криві дозозалежного інгібування для сполуки С в стабільній клітинній лінії hT2R14

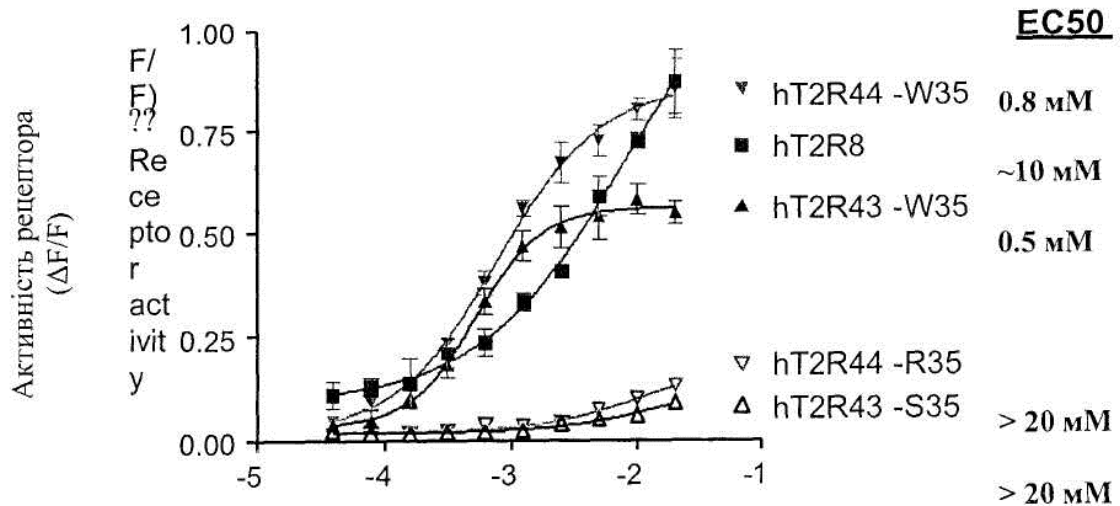


ФІГ. 4.

Інгібуюча активність S5105 відносно 22 hT2Rs



hT2Rs
ФІГ. 5



Фіг.6

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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

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