



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109414** (13) **C2**
(51) МПК (2015.01)

C07C 43/215 (2006.01)

C07C 43/23 (2006.01)

C07C 62/00

C07C 69/757 (2006.01)

C07C 49/753 (2006.01)

C07C 311/00

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

A61K 31/09 (2006.01)

A61K 31/125 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/00

A61P 19/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21)	Номер заявки:	а 2012 03785	(73)	Власник(и): ІСУМ РЕСЬОРЧ ДЕВЕЛОПМЕНТ КОМПАНІ ОФ ЗЕ ХЕБРЮ ЮНІВЕРСІТІ ОФ ЄРУСАЛІМ, ЛТД., High Tech Park, Givat Ram, Edmond Safra Campus, 91390 Jerusalem, Israel (IL)
(22)	Дата подання заявки:	18.11.2010	(74)	Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(24)	Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.08.2015	(56)	Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2008154083 A2, 18.12.2008 US 2537647 A, 09.01.1951 BELA SZABO: "Pharmacology of Cannabinoid Receptors", BIOTREND REVIEWS, no. 2, 2008, pages 1-13, HANUS: "HU-308: A specific agonist for CB2, a peripheral cannabinoid receptor", PROC. NAT. ACAD. SC., vol. 96, no. 25, 7 December 1999 (1999-12-07), pages 14228-14233 MAKRIYANNIS A.: "Bornyl- and Isobornyl- delta8-tetrahydrocannabinols: A Novel Class of Cannabinergic Ligands", J.MED.CHEM., no. 51, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 6393- 6399 DUCLOS R. I. ET AL.: "Synthesis and characterization of 2-substituted bornane pharmacophores for novel cannabinergic ligands", TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 49, no. 39, 22 September 2008 (2008-09-22), pages 5587-5589,
(31)	Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/262,677		
(32)	Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	19.11.2009		
(33)	Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41)	Публікація відомостей про заявку:	10.07.2012, Бюл.№ 13		
(46)	Публікація відомостей про видачу патенту:	25.08.2015, Бюл.№ 16		
(86)	Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IL2010/000970, 18.11.2010		
(72)	Винахідник(и): Мечулам Рафаель (IL), Магід Літаль (IL), Шохамі Естер (IL), Баб Ітай (IL)			

UA 109414 C2

(54) АРИЛЬОВАНІ КАМФЕНИ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЇХ ОСНОВІ

(57) Реферат:

Даний винахід стосується арильованих камфенів, способів їхнього отримання та їхніх застосувань для отримання лікарських засобів для лікування захворювань, розладів або станів, які пов'язані зі стимуляцією рецепторів CB2 або на які сприятливо впливає стимуляція рецепторів CB2.

ОБЛАСТЬ ТЕХНІКИ

Даний винахід відноситься до арильованих камфенів, способів їхнього отримання та їхніх застосувань для отримання лікарських засобів для лікування захворювань, розладів або станів, які пов'язані зі стимуляцією рецепторів CB2 або на які сприятливо впливає стимуляція рецепторів CB2.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Наступні публікації є релевантними для опису рівня техніки в області техніки, до якої відноситься даний винахід:

1. Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Gómez O, Rubio-Araiz A, Navarro-Galve B, Guaza C, Molina-Holgado E, Molina-Holgado F. CB2 cannabinoid receptors as an emerging target for demyelinating diseases: from neuroimmune interactions to cell replacement strategies. *Br J Pharmacol.* 153, 216-25 (2008).

2. Avraham Y, Israeli E, Gabbay E, Okun A, Zolotarev O, Silberman I, Ganzburg V, Dagon Y, Magen I, Vorobia L, Pappo O, Mechoulam R, Ilan Y, Berry EM. Endocannabinoids affect neurological and cognitive function in thioacetamide - induced hepatic encephalopathy. *Neurobiol. Disease*, 21, 237-245 (2006).

3. Ashton JC, Glass M. The cannabinoid CB2 receptor as a target for inflammation-dependent neurodegeneration. *Current Neuropsychopharmacol.* 5, 73-80 (2007).

4. Ashton JC, Rahman RM, Nair SM, Sutherland BA, Glass M, Appleton I. Cerebral hypoxia-ischemia and middle cerebral artery occlusion induce expression of the cannabinoid CB2 receptor in the brain. *Neurosci Lett.* 412, 114-7 (2007).

5. Bartlett, PD, Knox, LH. *Org. Synth. Coll. Vol.* 5, 689 (1973).

6. Benito C, Tolón RM, Pazos MR, Núñez E, Castillo AI, Romero J. Cannabinoid CB2 receptors in human brain inflammation. *Brit. J. Pharmacol.* 153, 277-285 (2008).

7. Bilsland LG, Dick JR, Pryce G, Petrosino S, Di Marzo V, Baker D, Greensmith L. Increasing cannabinoid levels by pharmacological and genetic manipulation delay disease progression in SOD1 mice. *FASEB J.* 20, 1003-5 (2006).

8. Centonze D, Rossi S, Finazzi-Agrò A, Bernardi G, Maccarrone M. The (endo)cannabinoid system in multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Int Rev Neurobiol.* 82, 171-86 (2007).

9. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M and Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits, *J. Neurotrauma* 13, 557-568 (1996).

10. Dagon Y, Avraham Y, Ilan Y, Mechoulam R, Berry EM. Cannabinoids ameliorate cerebral dysfunction following liver failure via AMP-activated protein kinase. *FASEB J.* 21, 2431-2441 (2007).

11. Docagne F, Mestre L, Loria F, Hernangómez M, Correa F, Guaza C. Therapeutic potential of CB2 targeting in multiple sclerosis. *Expert Opin Ther Targets.* 12, 185-95 (2008).

12. Dominianni SJ, Ryan, CW, DeArmitt CW. Synthesis of 5-(tert-alkyl)resorcinols. *J. Org. Chem.* 42, 344-346 (1977).

13. Fernandez-Ruiz J, Gonzalez S, Romero J, Ramos JA, Cannabinoids in neurodegeneration and neuroprotection. In R. Mechoulam (Ed.) "Cannabinoids as Therapeutics". Birkhauser, Basel, 2005, pp 79-109.

14. Fernández-Ruiz J, Pazos MR, García-Arencibia M, Sagredo O, Ramos JA. Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids, *Mol Cell. Endocrin.* 286 (Suppl 1), S91-S96 (2008).

15. Hanus L, Breuer A, Tchilibon S, Shiloah S, Goldenberg DM, Horowitz M, Pertwee RG, Ross RA, Mechoulam R, Fride E. HU -308: A specific agonist for CB2, a peripheral cannabinoid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. (US)*, 96, 14228-14233 (1999).

16. Hanus LO, Tchilibon S, Ponde DE, Breuer A, Fride E, Mechoulam R. Enantiomeric cannabidiol derivatives: Synthesis and binding to cannabinoid receptors. *Org. Biomol. Chem.* 3, 1116-1123 (2005).

17. Hertzog DL. Recent advances in the cannabinoids. *Expert Opin. Ther. Patents*, 14, 1435-1452 (2004).

18. Klegeris A, Bissonnette CJ, McGeer PL. Reduction of human monocytic cell neurotoxicity and cytokine secretion by ligands of the cannabinoid-type CB2 receptor *Br J Pharmacol.* 139, 775-86 (2003).

19. Kogan NM, Mechoulam R. The chemistry of endocannabinoids. *J. Endocrinol. Investig.* 29 (Suppl. 3) 3-14 (2006).

20. Kogan, NM, Mechoulam, R. Cannabinoids in health and disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* 9, 413-430 (2007).

21. Lotersztajn S, Teixeira-Clerc F, Julien B, Deveaux V, Ichigotani Y, Manin S, Tran-Van-Nhieu J, Karsak M, Zimmer A, Mallat A. CB2 receptors as new therapeutic targets for liver diseases. *Brit. J. Pharmacol.*, 153, 286-289 (2008).

22. McMurry JE, Scott WJ. A method for the regiospecific synthesis of enol triflates by enolate trapping. *Tetrahedron Lett.* 24, 979-982 (1983).

23. Mechoulam R, Braun P, Gaoni Y. Syntheses of (1-THC and related cannabinoids. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 6159-6165 (1972).

24. Mechoulam R, Sumariwalla PF, Feldmann M, Galilly R. Cannabinoids in models of chronic inflammatory conditions. *Phytochem. Revs* 4, 11-18 (2005).

25. Ofek O, Karsak, M, Leclerc N, Fogel M, Frenkel B, Wright K, Tam J, Attar-Namdar M, Kram V, Shohami E, Mechoulam R, Zimmer A, Bab I. Peripheral CB2 cannabinoid receptor regulates bone mass. *Proc. Natl. Acad. Sci., Proc. Natl. Acad. Sci. (US)* 103, 696-701 (2006).

26. Pacher P, Haskó G. Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol.* 153:252-62 (2008).

27. Palazuelos J, Aquado T, Egia A, Mechoulam R, Guzman M, Galve-Roperh I. Non-psychoactive CB2 cannabinoid agonists stimulate neural progenitor proliferation. *FASEB J.* 580, 4337-4345 (2006).

28. Palazuelos J, Davoust N, Julien B, Hatterer E, Aguado T, Mechoulam R, Benito C, Romero J, Silva A, Guzman M, Nataf S, Galve-Roperh I. The CB2 cannabinoid receptor controls myeloid progenitor trafficking. Involvement in the pathogenesis of an animal model of multiple sclerosis. *J Biol Chem.* 283, 13320-13329 (2008).

29. Steffens S, Mach F. Cannabinoid receptors in atherosclerosis. *Curr. Opinion Lipidology*, 17, 519-526, 2006.

30. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, Pelli G, Burger F, Staub C, Karsak M, Zimmer A, Frossard JL, Mach F. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature* 434, 782-786 (2005).

31. Thoren S. 4 Isomeric alpha-hydroxybornanones. *Acta Chemica Scandinavica.* 24, 93-98 (1970).

32. van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brain stem cannabinoid CB2 receptors. *Science*, 310, 329-332 (2005).

33. Yamamoto W, Mikami T, Iwamura H. Involvement of central cannabinoid CB2 receptor in reducing mechanical allodynia in a mouse model of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 56-61 (2008).

34. Zhang M, Martin BR, Adler MW, Razdan RK, Ganea D, Tuma RF. Modulation of the balance between cannabinoid CB1 and CB2 receptor activation during cerebral ischemic/reperfusion injury. *Neurosci.* 152, 753-760 (2008).

35. Pertwee RG, Gibson TM, Stevenson LA, Ross RA, Banner WK, Saha B, Razdan RK and Martin BR. O-1057, a potent water-soluble cannabinoid receptor agonist with antinociceptive properties. *Br J Pharmacol.* 129, 1577-1584 (2000).

36. Shohami E, Gallily R, Mechoulam R, Bass R and Ben-Hur T. Cytokine production in the brain following closed head injury: dexamethasone _ HU-211/ is a novel TNF- α inhibitor and an effective neuroprotectant. *J. Neuroimmunol.* 72, 169-177 (1997).

37. Ross RA, Brockie HC, Stevenson LA, Murphy VL, Templeton F, Makriyannis A and Pertwee RG. Agonist-inverse agonist characterization at CB1 and CB2 cannabinoid receptors of L759633, L759656 and AM630. *Br J Pharmacol.* 126, 665-672 (1999).

38. Beni-Adani L, Gozes I, Cohen Y, Assaf Y, Steingart RA, Brenneman DE, Eizenberg O, Trembolter V and Shohami E. A peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) ameliorates injury response in closed head injury in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 296, 57-63 (2001).

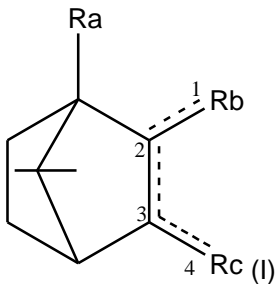
Дотепер добре охарактеризовані були два канабіноїдні рецептори - рецептор CB1, який є наявним, головним чином, у центральній нервовій системі (ЦНС) (і, у меншій мірі, у периферичній нервовій системі), і рецептор CB2, який в основному розглядають як периферичний рецептор. Природна стимуляція рецептора CB1, який продукується ендogenous канабіноїдами в необхідний час у необхідному місці, є важливою для багатьох фізіологічних систем. Проте, екзогенне введення агоністів CB1 (наприклад, такого, що міститься в марихуані THC (тетрагідроканабінолу)) може призводити до небажаних побічних ефектів. Таким чином, агоністи CB1, які впливають на центральну нервову систему, мають обмежену терапевтичну цінність (див. останній огляд Kogan and Mechoulam, 2007).

5

10

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

У даному винаході запропонована сполука загальної формули (I):



15

20

25

кожний із R_e і R_f незалежно обраний із H і лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкілу; і

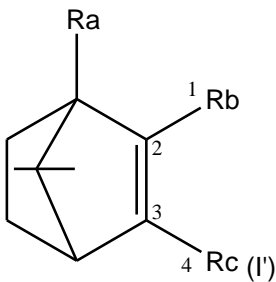
30

кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 кілу, лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкокси і NH_2 ; і

35

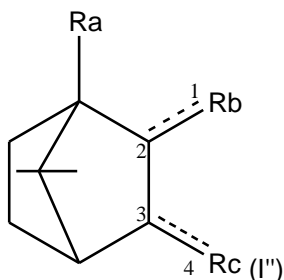
Згідно деяким варіантам реалізації винаходу щонайменше один із 1 ----- 2, 2 ----- 3, 3 ----- 4 являє собою подвійний зв'язок.

Згідно одному з варіантів реалізації даного винаходу ²⁻⁻⁻⁻⁻³ в сполучі формули (I) являє собою подвійний зв'язок. Отже, сполука формули (I) являє собою сполуку формули (I'):



40

Згідно іншому варіанту реалізації даного винаходу ²-----³ в сполуці формули (I) являє собою одинарний зв'язок. Отже, сполука формули (I) являє собою сполука формули (I''):



де замісники R_a , R_b і R_c такі, як визначено вище в даному описі.

Згідно одному з варіантів реалізації $1 \text{-----} 2$ являє собою подвійний зв'язок. Згідно цьому варіанту реалізації $2 \text{-----} 3$ являє собою одинарний зв'язок, а $3 \text{-----} 4$ може являти собою одинарний або подвійний зв'язок.

Згідно іншому варіанту реалізації $3 \text{-----} 4$ являє собою подвійний зв'язок. Згідно цьому варіантом реалізації $2 \text{-----} 3$ являє собою одинарний зв'язок, а $1 \text{-----} 2$ може являти собою одинарний або подвійний зв'язок.

Згідно іншому варіанту реалізації $1 \text{-----} 2$ являє собою одинарний зв'язок і $3 \text{-----} 4$ являє собою одинарний зв'язок.

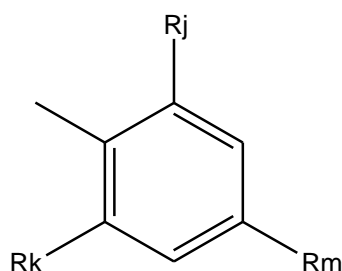
Згідно іншому варіанту реалізації винаходу щонайменше один із R_b і R_c являє собою фенільне кільце, заміщене щонайменше двома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-C(=O)OH$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкілу})$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкокси})$, $-OC(=O)H$, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)(C_1-C_5\text{алкілу})$. Таким чином, згідно одному з варіантів реалізації R_b являє собою фенільне кільце, заміщене щонайменше двома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, аміну, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-COOH$, $-CONH_2$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкілу})$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкокси})$, $-COOH$, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)(C_1-C_5\text{алкілу})$, а R_c обраний із $-H$, $-OH$, $=O$, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, $=S$, $-C_5-C_{15}$ арильного кільця, заміщеного щонайменше однією групою, обраною з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, аміну, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкокси і NH_2 . Згідно іншому варіанту реалізації R_c являє собою фенільне кільце, заміщене щонайменше двома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси- $COOH$, $-CONH_2$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{ алкілу})$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкокси})$, $-COOH$, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)(C_1-C_5\text{ алкілу})$, а R_b обраний із $-H$, $-OH$, $=O$, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, $=S$, $-C_5-C_{15}$ арильного кільця, заміщеного щонайменше однією групою, обраною з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, аміну, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкокси і NH_2 .

Згідно іншому варіанту реалізації винаходу щонайменше один із R_b і R_c являє собою фенільне кільце, заміщене щонайменше трьома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, $-C(=O)OH$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{алкілу})$, $-C(=O)(C_1-C_5\text{ алкокси})$, $-OC(=O)H$, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)(C_1-C_5\text{ алкілу})$.

Згідно з деякими варіантами реалізації винаходу, якщо всі $1 \text{-----} 2$, $2 \text{-----} 3$, $3 \text{-----} 4$ являють собою одинарний зв'язок, то щонайменше один із R_b і R_c являє собою $-C_5-C_{15}$ арильне кільце, заміщене щонайменше двома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, аміну, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкокси і NH_2 .

Згідно іншим варіантам реалізації винаходу, якщо всі $1 \text{-----} 2$, $2 \text{-----} 3$, $3 \text{-----} 4$ являють собою одинарний зв'язок, то щонайменше один із R_b і R_c являє собою $-C_5-C_{15}$ арильне кільце, заміщене щонайменше трьома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1 - C_{12} алкілу, C_2 - C_{12} алкенілу, C_2 - C_{12} алкінілу, C_1 - C_{12} алкокси, аміну, C_1 - C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1 - C_5 алкокси і NH_2 .

Згідно іншому варіанту реалізації даного винаходу щонайменше один із R_b і R_c являє собою групу формули (II):

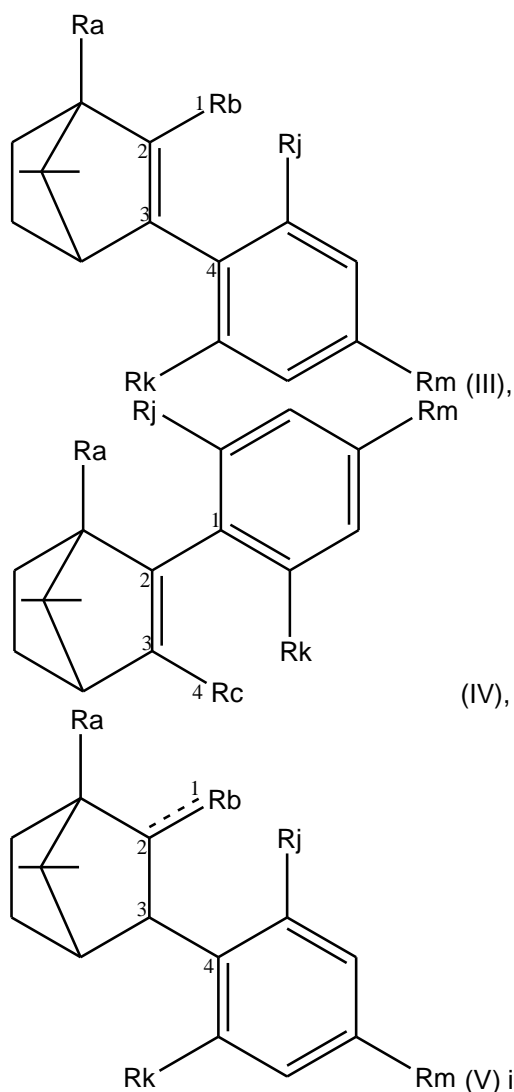


5

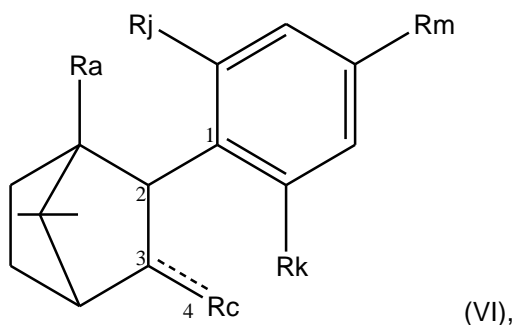
де кожний із R_j і R_k незалежно обраний із H і $-OR_n$, R_n обраний із H, $-COOR_t$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, можливо заміщеного щонайменше однією групою, обраною з $-COOH$, $-NH_2$, за умови, що щонайменше один із R_j і R_k відмінний від H; а R_m обраний із лінійного або розгалуженого C_6-C_{12} алкілу, лінійного або розгалуженого C_5-C_9 алкокси, лінійного або розгалуженого C_1-C_7 простого ефіру, кожний із яких можливо заміщений щонайменше однією групою, обраною з $-COOH$, $-NH_2$; а R_t обраний із H, C_1-C_5 алкілу і $-NH_2$.

10

Таким чином, сполука згідно з даним винаходом може являти собою сполуку будь-якої з формул (III), (IV), (V) або (VI):



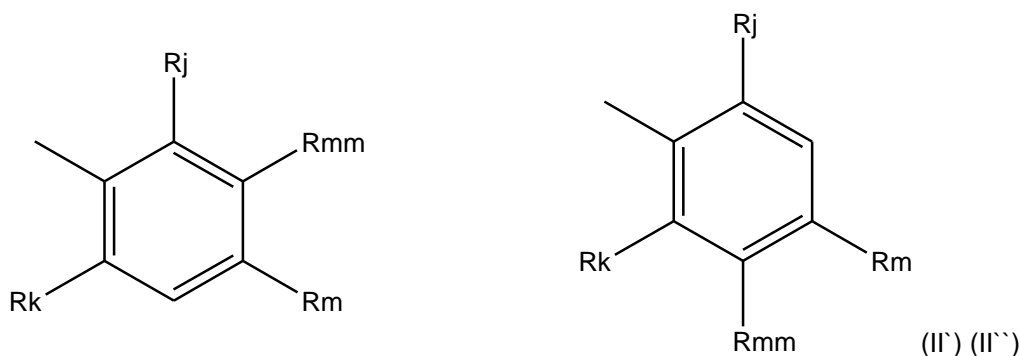
15



де кожний із R_j і R_k незалежно являє собою H або $-OR_n$, де R_n обраний із H, $-COOR_t$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, можливо заміщеного щонайменше однією групою, обраною з $-COOH$, $-NH_2$, за умови, що щонайменше один із R_j і R_k відмінний від H; а R_m являє собою лінійний або розгалужений C_6-C_{12} алкіл, а R_t обраний із H, C_1-C_5 алкілу і $-NH_2$.

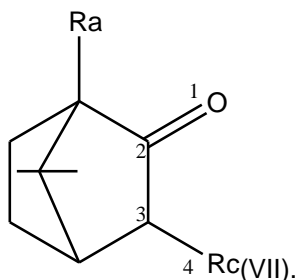
Згідно іншому варіанту реалізації даного винаходу R_a обраний із лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу і $-C(=O)R_d$, кожний із яких можливо заміщений щонайменше однією групою, обраною з $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, C_1-C_5 аміну, галогену, фенілу, гетероарилу, а R_d такий, як визначено вище в даному описі.

Згідно іншому варіанту реалізації даного винаходу щонайменше один із R_b і R_c являє собою групу формули (II') або (II''):

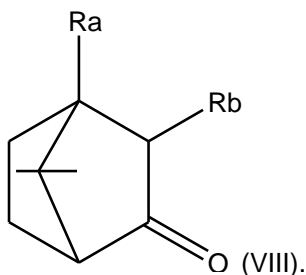


де кожний із R_j , R_k і R_{mm} незалежно обраний із H і $-OR_n$, де R_n обраний із H, $-COOR_t$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, можливо заміщеного щонайменше однією групою, обраною з $-COOH$, $-NH_2$, за умови, що принаймні один із R_j і R_k відмінний від H; а R_m обраний із можливо заміщеного лінійного або розгалуженого C_3-C_{12} алкілу, можливо заміщеного лінійного або розгалуженого C_3-C_9 алкокси, можливо заміщеного лінійного або розгалуженого C_1-C_7 складного ефіру; а R_t обраний із H, C_1-C_5 алкілу і $-NH_2$.

Згідно з іншим варіантом реалізації сполуки формули (I), якщо $2 \text{-----} 3$ являє собою одинарний зв'язок, то кожний із R_b і R_c незалежно обраний із $-H$, $-OH$, $=O$, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, $=S$, $-C_5-C_{15}$ арильного кільця, заміщеного щонайменше двома замісниками, обраними з лінійного або розгалуженого C_1-C_{12} алкілу, C_2-C_{12} алкенілу, C_2-C_{12} алкінілу, C_1-C_{12} алкокси, аміну, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкокси і $-NH_2$; за умови, що принаймні один із R_b і R_c являє собою зазначене $-C_5-C_{15}$ арильне кільце. Згідно з іншим варіантом реалізації зазначений R_b являє собою $=O$, таким чином сполука згідно з даним винаходом може являти собою сполуку формули (VII), де R_c являє собою зазначене заміщене $-C_5-C_{15}$ арильне кільце:



Згідно з іншим варіантом реалізації R_c являє собою $=O$, таким чином сполука згідно з даним винаходом може являти собою сполуку формули (VIII), де R_b являє собою зазначене заміщене - C_5-C_{15} арильне кільце:

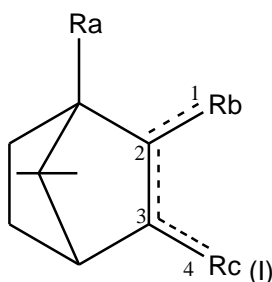


5

Згідно одному з варіантів реалізації сполука згідно даному винаходу обрана з наступного списку:

- метил-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- метил-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- 2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен;
- (2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- (2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол;
- (3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- метил-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- (3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 5-(2-метилоктан-2-іл)-2-(4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 2-(4-(гідроксиметил)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл)-5-(2-метилоктан-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 3-(2,6-дигідрокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 2-(4-(гідроксиметил)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл)-5-(2-метилоктан-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 5-(2-метилоктан-2-іл)-2-(4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл)бензол-1,3-діол; і
- 3-(2,6-дигідрокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гептан-1-карбонова кислота.

У винаході також запропонована сполука загальної формули (I):



45

де:
кожний із 1 ----- 2, 2 ----- 3, 3 ----- 4 незалежно являє собою одинарний або подвійний зв'язок;

R_a обраний із лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_2-C_5 алкенілу, лінійного або розгалуженого C_2-C_5 алкінілу і $-C(=O)R_d$, кожний із яких можливо заміщений щонайменше однією групою, обраною з $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, C_1-C_5 аміну, галогену, фенолу, гетероарилу; де

R_d обраний із групи, яка складається з $-H$, $-OH$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_2-C_5 алкенілу, лінійного або розгалуженого C_2-C_5 алкінілу, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкокси, $-NR_eR_f$;

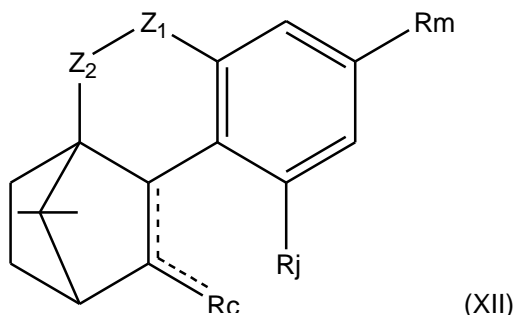
кожний із R_e і R_f незалежно обраний із H і лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу; і

кожний із R_b і R_c незалежно обраний із $-H$, $-OH$, $=O$, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, $=S$, $-C_5-C_{15}$ арильного кільця, заміщеного щонайменше однією групою, обраною з лінійного або розгалуженого C_1-C_{12} алкілу, C_2-C_{12} алкенілу, C_2-C_{12} алкінілу, C_1-C_{12} алкокси, аміну, C_1-C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OH$, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкокси і $-NH_2$;

або R_a і R_b можуть утворювати кільце разом з атомами вуглецю, до яких вони приєднані; зазначене кільце може являти собою циклоалкіл, циклогетероалкіл, циклогетероалкеніл, циклоалкеніл, циклоалкініл, циклогетероалкінільне кільце; згідно з деякими варіантами реалізації зазначене кільце являє собою 12-членне кільце;

за умови, що щонайменше один із R_b і R_c являє собою зазначене заміщене $-C_5-C_{15}$ арильне кільце.

Згідно з деякими варіантами реалізації сполука згідно з даним винаходом має загальну формулу (XII):



де ----- являє собою одинарний або подвійний зв'язок;

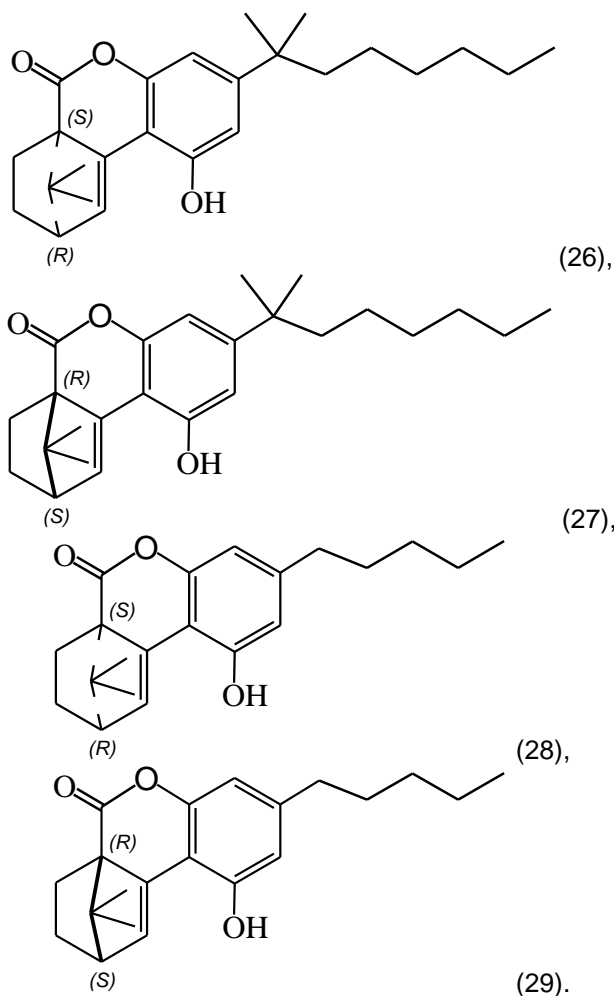
R_c обраний із $-H$, $-OH$, $=O$, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, $=S$, $-C_5-C_{15}$ арильного кільця, заміщеного щонайменше однією групою, обраною з лінійного або розгалуженого C_1-C_{12} алкілу, C_2-C_{12} алкенілу, C_2-C_{12} алкінілу, C_1-C_{12} алкокси, аміну, C_1-C_{12} алкоксикарбонової кислоти, $-OC(=O)R_p$ і $-C(=O)R_q$; де кожний із R_g , R_h , R_i , R_p і R_q незалежно обраний із H , лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкокси і $-NH_2$;

R_j обраний із H і $-OR_n$, де R_n обраний із H , $-COOR_t$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілу, можливо заміщеного щонайменше однією групою, обраною із $-COOH$, $-NH_2$; а R_t обраний із H , C_1-C_5 алкілу і $-NH_2$;

R_m обраний із лінійного або розгалуженого C_6-C_{12} алкілу, лінійного або розгалуженого C_5-C_9 алкокси, лінійного або розгалуженого C_1-C_7 простого ефіру; кожний із яких можливо заміщений щонайменше однією групою, обраною з $-COOH$, $-NH_2$;

кожний із Z_1 і Z_2 незалежно обраний із $-O-$, лінійного або розгалуженого C_1-C_5 алкілену, $-S-$, $-C(=O)-$ і $-C(=S)-$.

Згідно з іншими варіантами реалізації сполука згідно з даним винаходом може бути обрана з групи, яка складається з:



5

Використовуваний у даному описі термін "алкіл" відноситься до вуглеводню з лінійним або розгалуженим ланцюгом, який містить від одного до п'яти атомів вуглецю, або від одного до семи атомів вуглецю, або від п'яти до дев'яти атомів вуглецю, або від шести до дванадцяти атомів вуглецю. Приклади "алкілу", використовуваний в даній заявці, включають, але не обмежуються ними, метил, етил, пропіл, н-бутил, н-пентил, ізобутил та ізопропіл, трет-бутил тощо.

10

Використовуваний у даному описі термін "алкеніл" являє собою розгалужену або лінійну вуглеводневу групу, яка містить від 2 до 5 або від 2 до 12 атомів вуглецю й щонайменше один подвійний зв'язок. Приклади подібних груп включають, але не обмежуються ними, етеніл, 1-пропеніл, 2-пропеніл, ізопропеніл, 1,3-бутадієніл, 1-бутеніл, 2-бутеніл, 1-пентеніл, 2-пентеніл, 1-гексеніл, 2-гексеніл тощо.

15

Використовуваний у даному описі термін "алкініл" являє собою розгалужену або лінійну вуглеводневу групу, яка містить від 2 до 5 або від 2 до 12 атомів вуглецю й щонайменше один потрійний зв'язок. Приклади подібних груп включають, але не обмежуються ними, етиніл, 1-пропініл, 2-пропініл, 1-бутиніл, 2-бутиніл, 1-пентиніл, 2-пентиніл, 1-гексиніл, 2-гексиніл тощо.

20

Використовуваний у даному описі термін "арил" відноситься до ароматичних моноциклічних або поліциклічних груп, які містять від 5 до 15 атомів вуглецю. Арильні групи включають, але не обмежуються ними, групи, такі як незаміщений або заміщений флуореніл, незаміщений або заміщений феніл і незаміщений або заміщений нафтил. Якщо зазначений арил називають заміщеним, то зазначене заміщення може відбуватися в будь-якому положенні кільця, відмінному від місця приєднання до іншої системи кілець сполуки згідно з даним винаходом. Таким чином, будь-який атом водню арильного кільця може бути заміщений на замісник, визначений згідно з даним винаходом. Згідно з варіантами реалізації, у яких арил являє собою фенільне кільце, зазначене заміщення може відбуватися в мета- і/або орто- і/або пара-положенні відносно місця приєднання.

25

30

Використовуваний у даному описі термін "гетероарил" відноситься до моноциклічної або поліциклічної системи кілець, згідно з конкретними варіантами реалізації, яка містить приблизно

від 5 до 15 членів, де один або більше, згідно з одним із варіантів реалізації від 1 до 3, атом системи кілець являє собою гетероатом, який являє собою елемент, відмінний від вуглецю, який включає, але не обмежується ними, азот, кисень або сірку. Гетероарильна група може бути конденсована з бензольним кільцем. Гетероарильні групи включають, але не обмежуються ними, фурил, імідазоліл, піримідиніл, тетразоліл, тієніл, піридил, піроліл, тіазоліл, ізотіазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, триазоліл, хінолініл і ізохінолініл.

Використовуваний у даному описі термін " C_1 - C_{12} алкоксикарбонова кислота" відноситься до радикала $-O-(C_1-C_{12} \text{ алкілен})-COOH$.

Використовуваний у даному описі термін "алкілен" відноситься до насиченої бівалентної розгалуженої або лінійної вуглеводневої групи, яка містить від одного до п'яти атомів вуглецю. Необмежуючі приклади C_{1-5} алкіленових груп включають метилен, етилен, 1,2-пропілен, 1,3-пропілен, бутилен, ізобутиліден, пентилен, гексилен тощо.

Розуміють, що використовуваний у даному описі термін "складний ефір" включає групу $-COOR$, де R являє собою алкіл, визначений вище в даному описі.

Використовуваний у даному описі термін "простий ефір" відноситься до групи $-R'OR$, де R' являє собою C_1 - C_7 лінійну або розгалужену алкіленову групу, а R являє собою C_1 - C_7 лінійну або розгалужену алкілну групу.

Використовуваний у даному описі термін "алкокси" відноситься до RO -групи, де R являє собою алкіл, визначений вище.

Використовуваний у даному описі термін " C_1 - C_7 амід" відноситься до моноалкіламідів ($-CONHR$) або диалкіламідів ($-CONRR'$), де R і R' незалежно являють собою C_1 - C_7 лінійний або розгалужений алкіл.

Використовуваний у даному описі термін " C_1 - C_5 амін" відноситься до групи $-NHR$ або $-NRR'$, де R і R' незалежно являють собою C_1 - C_5 лінійний або розгалужений алкіл.

Термін "можливо заміщений", використовуваний у даному описі, означає, що розглянуті групи є незаміщеними або заміщені одним або більше замісником, таким як, наприклад, замісники, описані вище, а також феніл, заміщений феніл, арил, гетероарил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, галоген ($-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$), $-COOH$, $-NH_2$, $-NHR$ і $-NRR'$, де кожний із R і R' незалежно являє собою лінійний або розгалужений C_1 - C_5 алкіл. Якщо групи заміщені більше, ніж одним замісником, то замісники можуть бути однаковими або різними, і зазначене заміщення може відбуватися в будь-якому положенні заміщеної групи (тобто, у термінальному або будь-якому проміжному положенні, або в обох положеннях).

Термін "циклоалкіл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних тільки простими зв'язками.

Термін "циклоалкеніл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних за допомогою щонайменше одного подвійного зв'язку.

Термін "циклоалкініл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних за допомогою щонайменше одного потрійного зв'язку.

Термін "циклогетероалкіл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних тільки простими зв'язками, де щонайменше один атом вуглецю заміщений на гетероатом, обраний із N , O , S .

Термін "циклогетероалкеніл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних за допомогою щонайменше одного подвійного зв'язку, де щонайменше один атом вуглецю заміщений на гетероатом, обраний із N , O , S .

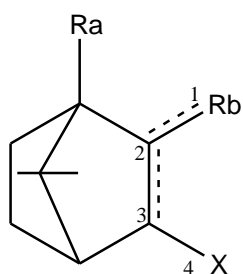
Термін "циклогетероалкініл" відноситься до циклічного кільця, яке містить від 6 до 12 атомів вуглецю, з'єднаних за допомогою щонайменше одного потрійного зв'язку, де щонайменше один атом вуглецю заміщений на гетероатом, обраний із N , O , S .

Фахівцям у даній області очевидно, що конкретні сполуки згідно з даним винаходом можуть містити щонайменше один стереогенний атом вуглецю. Таким чином, слід зазначити, що даний винахід охоплює всі можливі стереоізомери подібних сполук, включаючи всі можливі їх суміші (наприклад, рацемічні суміші, діастереомерні суміші, нерацемічні суміші тощо). Також слід зазначити, що сполуки згідно з даним винаходом можуть містити подвійний зв'язок. Таким чином, даний винахід охоплює будь-які стереоізомери (цис, транс, E або Z стереоізомери) подібних сполук, включаючи будь-які їхні суміші.

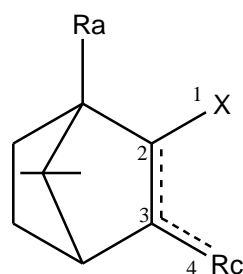
У винаході також запропоновані способи отримання сполук згідно з даним винаходом.

Згідно з одним із аспектів у винаході запропонований спосіб отримання сполуки загальної формули (I), визначеної вище в даному описі, який включає:

(а) забезпечення сполуки, що має загальну формулу (X) або (X'):



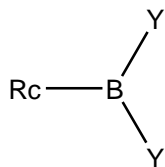
(X)



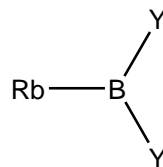
(X')

де R_a , R_b і R_c мають значення, визначені вище; X являє собою галід, псевдогалід, функціональну відхідну групу (наприклад, $-OTf$ і аналогічні функціональні групи, які можливо легко видалити в реакції сполучення); а кожний $1 \text{-----} 2$, $2 \text{-----} 3$, $3 \text{-----} 4$ незалежно являє собою одинарний або подвійний зв'язок;

(b) взаємодія сполуки (X) або (X') зі сполукою, що має загальну формулу (XI) або (XI') відповідно:



(XI')

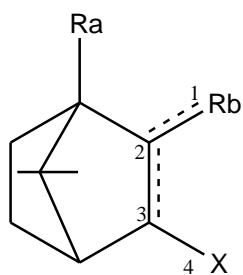


(XI)

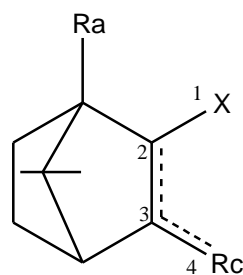
де кожний із Y незалежно обраний із OH , C_1-C_5 алкокси або обидва можуть утворювати циклічне діалкокси-кільце сумісно з атомом бору, до якого вони приєднані, за наявності каталізатора; тим самим отримуючи сполуку формули (I).

Згідно з іншим аспектом у винаході запропонований спосіб отримання сполуки формули (I), визначеної вище в даному описі, який включає:

(a) забезпечення сполуки, що має загальну формулу (X) або (X'):



(X)



(X')

де R_a , R_b і R_c мають значення, визначені вище в даному описі; X являє собою галід, псевдогалід, функціональну відхідну групу (наприклад, $-OTf$ і аналогічні функціональні групи, які можливо легко видалити в реакції сполучення); а кожний $1 \text{-----} 2$, $2 \text{-----} 3$, $3 \text{-----} 4$ незалежно являє собою одинарний або подвійний зв'язок;

(b) сполучення сполуки (X) або (X') з R_c-H або R_b-H відповідно; тим самим отримуючи сполуку формули (I). Згідно з деякими варіантами реалізації зазначений спосіб сполучення являє собою процес обміну галоген-метал, докладно описаний далі.

Зазначені способи включають, наприклад, реакції крос-сполучення за Сузукі, представлені далі:

1. Метилування (\pm) кетопінової кислоти метилйодидом і карбонатом калію в диметилформаміді, що призводить до отримання (\pm) метилкетопінату;

2. Енолізація (±) камфор/(±) епікамфор/(±) метилкетопінату діізопропіламідом літію й приєднання фенілтрифліміду в тетрагідрофурані з отриманням відповідного (±) вінілтрифлату;

3. Літіювання 2,6-диметилового ефіру 4-алкілрезорцину н-бутиллітієм і отримання арилборонового ефіру з застосуванням ізопропілпінаколборату в тетрагідрофурані;

5 4. Реакція крос-сполучення між арилбороновим ефіром і (±) вінілтрифлатом, яка каталізується тетракис(трифенілфосфин)паладієм у присутності фториду трет-бутиламонію в тетрагідрофурані з отриманням відповідного (±) арильованого борнену;

5. Відновлення (±) арильованого метилкетопінату алюмогідридом літію в тетрагідрофурані з отриманням відповідного спирту;

10 6. Гідроліз (±) арильованого метилкетопінату гідроксидом літію в суміші метанол/вода з отриманням відповідної кислоти.

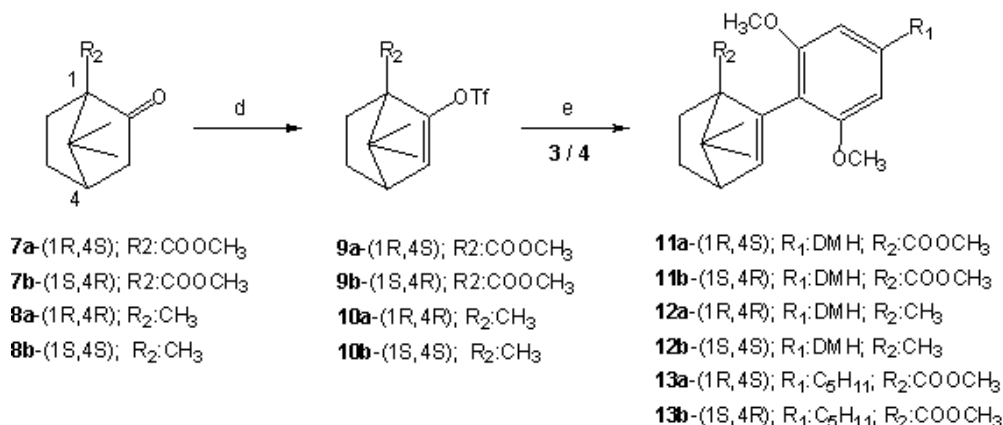
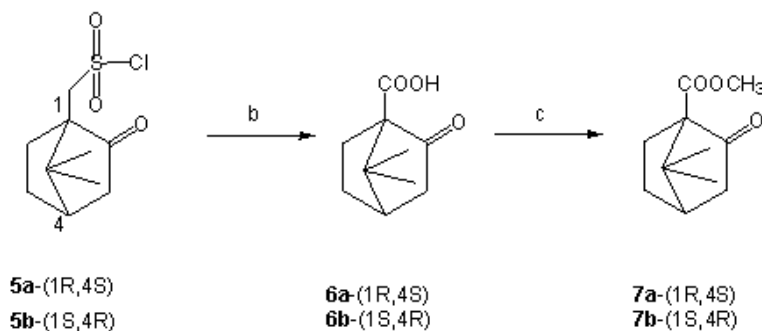
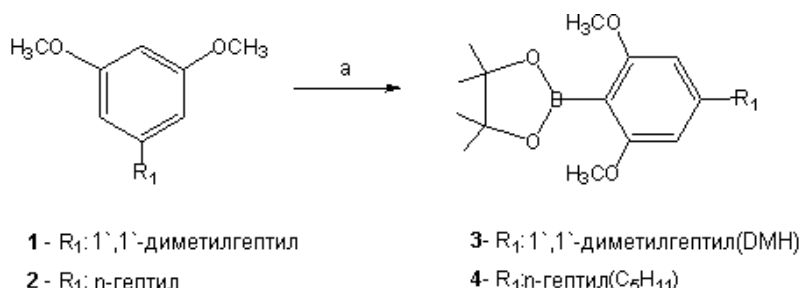
Інший альтернативний спосіб отримання сполук згідно з даним винаходом включає процес обміну галоген-метал, представлений далі:

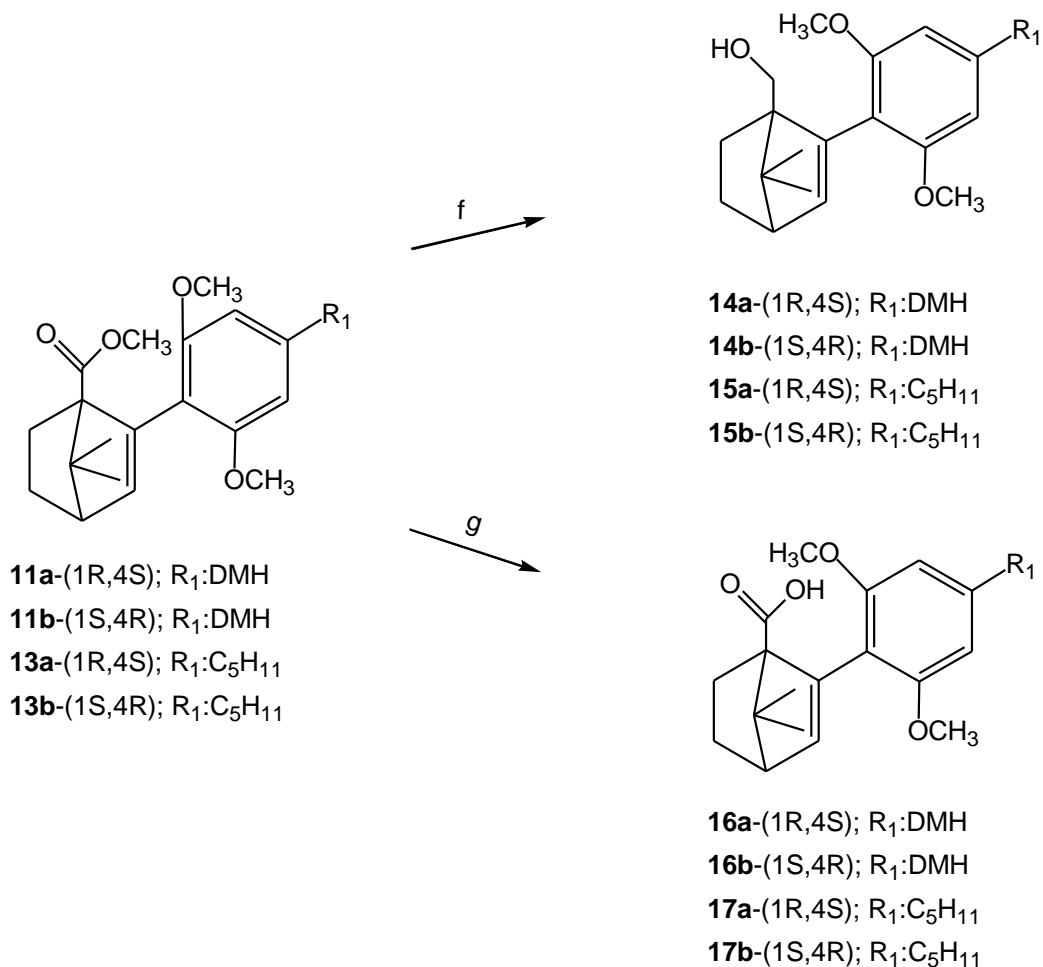
15 1. Сполучення 2,6-диметилвий ефір-4-алкілрезорцину, прискорене літіюванням н-бутиллітієм і металюванням йодидом міді, з (+) 3-бромкамфорою у діетиловому ефірі й диметилсульфоксиді з отриманням арильованої камфори;

2. Відновлення карбоніл-вмісної камфори алюмогідридом літію в тетрагідрофурані з отриманням відповідного спирту.

Типові способи отримання сполук згідно з даним винаходом представлені на Схемах 1 і 2.

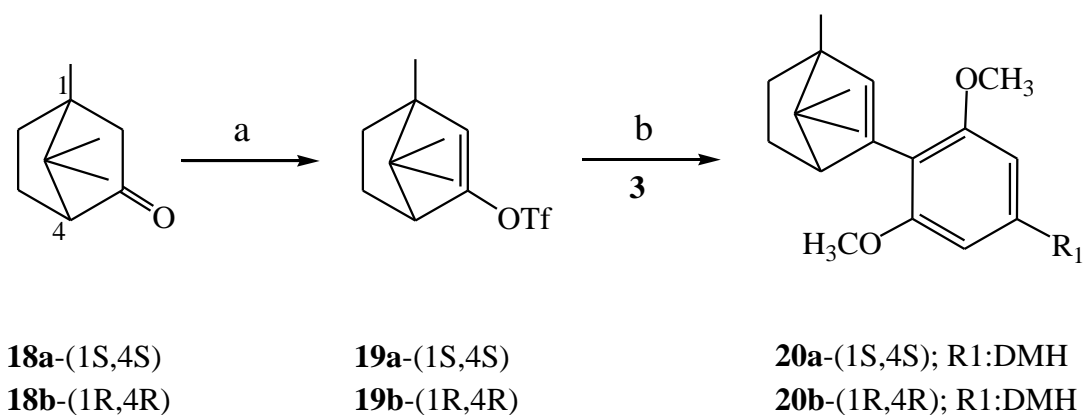
20 Схема 1^a. Реакція крос-сполучення в положенні C2 камфорного фрагмента.

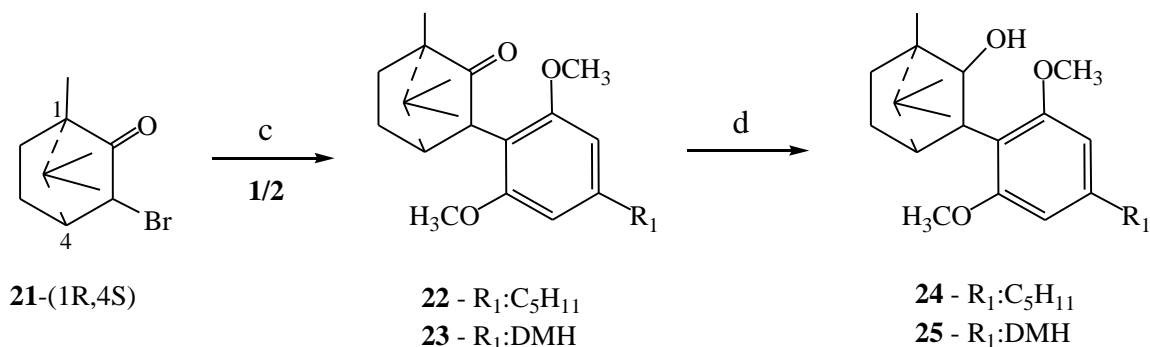




^a Реагенти і умови: (a) n-BuLi, ТГФ, 0 °С, PINBOP, -78 °С. (b) Na₂CO₃, H₂O, KMnO₄, кип'ятіння зі зворотним холодильником. (c) K₂CO₃, ДМФ, MeI, КТ. (d) LDA, ТГФ, -78 °С, фенолтрифлімід, від 0 °С до КТ. (e) Pd(PPh₃)₄, t-BuNF, ТГФ, кип'ятіння зі зворотним холодильником. (f) LiAlH₄, ТГФ, від 0 °С до КТ. (g) LiOH, MeOH/H₂O 3:1, 200 °С.

Схема 2^a. Реакції крос-сполучення в положенні С3 камфорного фрагмента.





^a Реагенти і умови: (a) LDA, ТГФ, -78 °С, фенілтрифлімід, від 0 °С до КТ. (b) Pd(PPh₃)₄, t-BuNF, ТГФ, кип'ятіння зі зворотним холодильником. (c) n-BuLi, діетиловий ефір, від 0 °С до КТ, Cu, діетиловий ефір/ДМСО. (d) LiAlH₄, діетиловий ефір, від 0 °С до кипіння.

Згідно з іншим варіантом реалізації сполука згідно з даним винаходом здатна стимулювати рецептор CB.

Розуміють, що термін "рецептор CB" включає канабіноїдні рецептори, пов'язані з G-білком, визначені за здатністю зв'язуватися з канабіноїдами і/або ендоканабіноїдами. Згідно з одним із варіантів реалізації зазначений рецептор являє собою рецептор CB2 (канабіноїдний рецептор 2 Типу). Згідно з іншим варіантом реалізації зазначена стимуляція рецептора CB2 пов'язана з лікуванням захворювання, розладу або стану.

Розуміють, що "стимуляція" рецептора CB композицією згідно з даним винаходом включає будь-який ступінь збудження рецептора CB, який забезпечує активацію зазначеного рецептора, наприклад, агоністичну дію сполуки згідно з даним винаходом на зазначений рецептор CB. Слід зазначити, що для досягнення зазначеної стимуляції необхідне встановлення зв'язку між сполукою згідно з даним винаходом і зазначеним рецептором. Сполука згідно з даним винаходом може асоціювати із зазначеним рецептором за допомогою будь-якого типу взаємодії, наприклад, ковалентних зв'язків, електростатичних зв'язків (наприклад, водневих зв'язків, π або σ взаємодій, лондоновських дисперсійних сил, ван-дер-Ваальсових сил тощо), йонних зв'язків, металевих зв'язків тощо.

Було показано, що стимуляція рецептора CB2 має значиму медичну цінність (Ештон і Гласс (Ashton and Glass), 2007). Деякі дії, що важливі для даного патенту, перераховані далі:

1. Селективна стимуляція рецептора CB2 чинить сильну протизапальну дію для широкого діапазону тваринних моделей (Ештон і Гласс (Ashton and Glass), 2007; Беніто зі співавторами (Benito et al.), 2008); знижує невропатичний біль (Ямамото зі співавторами (Yamamoto et al.), 2008); інгібує секрецію протизапальних цитокінів (Клегеріс зі співавторами (Klegeris et al.), 2003).

2. Агоністи рецептора CB2 стимулюють функцію остеобластів і інгібують остеокласти, що призводить до підвищеного остеогенезу. Ці дії мають велике значення при остеопорозі (Офек зі співавторами (Ofek et al.), 2005).

3. Стимуляція рецептора CB2 сповільнює прогресування атеросклерозу на тваринних моделях (Стефенс зі співавторами (Stefens et al.), 2005; Стефенс і Мак (Stefens and Mach), 2006). Оскільки церебральна гіпоксія-ішемія й оклюзія середньої мозкової артерії індукують експресію рецептора CB2, зазначені агоністи можуть знижувати дію цих станів (Ештон зі співавторами (Ashton et al.), 2006).

4. Показано, що селективна стимуляція рецептора CB2 знижує гепатичну енцефалопатію (невропсихіатричне ускладнення, яке виникає при гострій і хронічній печінковій недостатності) і має антифібриногенну дію (Авраам зі співавторами (Avraham et al.), 2006; Дагон зі співавторами (Dagon et al.), 2007; Лотерштайн зі співавторами (Lotersztajn et al.), 2008).

5. Стимуляція рецептора CB2 має потенціал для блокування розвитку хвороби Альцгеймера (Беніто зі співавторами (Benito et al.), 2008), хвороби Хантінгтона (Fernandez-Ruiz et al., 2005), аміотропного латерального склерозу (Bilsland et al., 2006; Centonze et al., 2007), розсіяного склерозу (Docagne et al., 2008) і уражень мієліну (Arevalo-Martin et al., 2008). Див. загальний огляд (Fernandez-Ruiz et al., 2008).

6. Активація канабіноїдного рецептора CB2 знижує ймовірність церебрального інфаркту на моделі фокальної ішемії/реперфузії у мишей, а антагоніст CB1 разом із агоністом CB2 покращують кровообіг головного мозку (Zhang et al., 2008).

7. Стимуляція рецептора CB2 допомагає встановити ішемічне прекодиціювання (високоактивна ендогенна форма захисту тканин від ішемії-реперфузії в різних органах) (Pacher and Hasko, 2008).

8. Стимуляція рецептора CB придушує нудоту (van Sickle et al., 2005) .

9. Агоністи канабіноїдного рецептора CB2 стимулюють проліферацію нейронних прогеніторних клітин (Palazuelos et al., 2006, 2008). Ця дія може бути пов'язана з відновленням нейронних ушкоджень.

У рамках даного винаходу розуміють, що термін "лікування" включає зміст і догляд за пацієнтом для боротьби з захворюванням, розладом або станом. Термін включає вповільнення розвитку захворювання, розладу або стану, зниження або ослаблення симптомів та ускладнень і/або лікування або усунення захворювання, розладу або стану. Пацієнт, якого піддають лікуванню, переважно являє собою ссавця, зокрема людину. Термін "лікування" відноситься до введення терапевтичної кількості сполуки згідно з даним винаходом, яка є ефективною для однієї з наступних дій: зниження небажаних симптомів, пов'язаних із захворюванням, розладом або патологічним станом; ефективною для запобігання прояву подібних симптомів до їх виникнення; ефективною для вповільнення прогресування захворювання або розладу; ефективною для вповільнення посилення ступеня тяжкості захворювання, розладу або стану; ефективною для продовження періоду ремісії; ефективною для вповільнення необоротних ушкоджень, які викликаються на прогресуючій стадії хронічного розладу; ефективною для затримки прояву зазначеної прогресуючої стадії; ефективною для зниження тяжкості або лікування захворювання або розладу; ефективною для збільшення виживаності індивідуумів, інфікованих захворюванням або ефективною для профілактики супутніх форм захворювань (наприклад, у індивідуумів, схильних до захворювання), або для комбінації двох чи більше вищевказаних дій.

Таким чином, згідно з одним із варіантів реалізації даного винаходу зазначене захворювання, розлад або стан обраний із запалення, болю, алергії, неврологічних і нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкоджень мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу; розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту і нудоти або будь-якої їхньої комбінації.

Згідно з іншим варіантом реалізації зазначене захворювання, розлад або стан являє собою ушкодження головного мозку. Згідно з іншим варіантом реалізації зазначене ушкодження головного мозку являє собою травму головного мозку, обрану із закритої травми черепа, проникаючої травми мозку, контузії, церебральної ішемії-реперфузії, постопераційної травми мозку, крововиливу в мозок.

Згідно з іншим варіантом реалізації зазначена сполука згідно з даним винаходом може знижувати вторинну шкоду, викликану травмою головного мозку.

Розуміють, що терміни "ушкодження головного мозку", "травма головного мозку" або "травматичне ушкодження мозку", використовувані в даному описі взаємозамінно, охоплюють будь-які травматичні ушкодження мозку, які можуть бути викликані зовнішнім ударним впливом (таким як швидке прискорення або сповільнення, удар, ударні хвилі або влучення снарядом) або захворюванням чи розладом (таким як, наприклад, ішемія, інсульт, інфекція або аневризм).

Травми мозку можна класифікувати за ступенем тяжкості, механізмом (закрите або проникаюче ушкодження голови) або за іншими ознаками (наприклад, за виникненням у конкретній анатомічній ділянці або у великій області мозку). Ушкодження голови також можна класифікувати за тяжкістю на слабкі, середні або тяжкі, які можуть бути діагностовані за допомогою вимірювання за допомогою різних Міжнародних шкал, наприклад, рівня свідомості пацієнта, який має ушкодження.

Крім ушкоджень, які викликаються у момент ушкодження, травма мозку викликає вторинну шкоду (вторинна шкода, викликана травмою мозку), яка проявляється в ряді ускладнень, що виникають через кілька хвилин і/або днів після ушкодження. Ці процеси, які включають зміни кровообігу головного мозку й внутрішньочерепного тиску, істотно доповнюють ушкодження від первісної травми. У результаті функція мозку може бути тимчасово або постійно порушена, а структурні ушкодження можуть детектуватися або не детектуватися.

Ослаблення функції мозку і неврологічних функцій мозку може бути пов'язане не тільки з первинним ушкодженням мозку (ушкодженням, що виникає в момент травми, коли відбувається розтягнення, стискання або розрив тканин і кров'яних судин), але також із вторинним ушкодженням, вираженим сукупністю клітинних процесів і біохімічних каскадів, які відбуваються через кілька хвилин або днів після травми. Ці вторинні процеси можуть істотно погіршувати ушкодження, викликане первинною травмою, і викликати значну кількість стійких розладів, а також смерть. Вторинні ускладнення включають, але не обмежуються ними, ушкодження гематоенцефалічного бар'єра, вивільнення факторів, які викликають запалення, підвищений вміст вільних радикалів, підвищене вивільнення нейротрансмітера глутамату

(ексайтотоксичність), надходження йонів кальцію і натрію в нейрони та дисфункцію мітохондрії. Ушкоджені аксони білої речовини мозку можуть відділятися від клітинного тіла в результаті вторинного ушкодження, яке потенційно може призвести до смерті нейронів. Іншими факторами вторинних ушкоджень є зміни кровообігу мозку; ішемія (недостатній кровообіг); церебральна гіпоксія (недостатній вміст кисню в мозку), набряк головного мозку (набрякання мозку); і підвищений внутрішньочерепний тиск (тиск усередині черепа). Внутрішньочерепний тиск може збільшуватися в результаті набрякання або мас-ефекту, який виникає в результаті розладу, такого як крововилив. У результаті церебральний перфузійний тиск (тиск кровотоку в мозку) знижується, що призводить до ішемії. Якщо тиск усередині черепа є дуже високим, то може викликати смерть або вклинення мозку, при якому частки мозку здавлюються черепними структурами.

Згідно з іншим варіантом реалізації сполуку згідно з даним винаходом застосовують як лікарський засіб.

Згідно з іншим варіантом реалізації сполуку згідно з даним винаходом застосовують для лікування захворювання, розладу або стану, обраного із запалення, болю, алергії, неврологічних і нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкоджень мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу; розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту і нудоти або будь-якої їх комбінації. Згідно з одним із варіантів реалізації сполуку згідно з даним винаходом застосовують для лікування ушкодження головного мозку. Згідно з одним із варіантів реалізації зазначене ушкодження мозку обране із закритого ушкодження голови, проникаючого ушкодження голови, контузії, церебральної ішемії-реперфузії, постопераційного ушкодження мозку, крововиливу в мозок. Згідно з іншим варіантом реалізації сполуку згідно з даним винаходом застосовують для зниження вторинної шкоди, викликані травмою мозку.

Згідно з одним із аспектів у винаході запропонована фармацевтична композиція, яка містить сполуку згідно з даним винаходом.

Згідно з одним із варіантів реалізації зазначена фармацевтична композиція згідно з даним винаходом призначена для лікування захворювання, розладу або стану, обраного із запалення, болю, алергії, неврологічних і нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкоджень мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу; розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту і нудоти або будь-якої їх комбінації. Згідно з іншим варіантом реалізації зазначене захворювання, розлад або стан являє собою ушкодження головного мозку. Згідно з іншим варіантом реалізації зазначене ушкодження головного мозку обране із закритого ушкодження голови, проникаючого ушкодження голови, контузії, церебральної ішемії-реперфузії, постопераційного ушкодження мозку, крововиливу в мозок. Згідно з іншим варіантом реалізації фармацевтичну композицію згідно з даним винаходом застосовують для зниження вторинної шкоди, викликані травмою мозку.

Згідно з іншим аспектом винаходу запропоновано застосування сполуки згідно з даним винаходом для отримання фармацевтичної композиції.

Згідно з деякими варіантами реалізації зазначена фармацевтична композиція призначена для стимуляції росту кісток, кісткової маси, регенерації кісті або попередження втрати кісткової маси.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропоновано застосування сполуки згідно з даним винаходом для отримання лікарського засобу (або фармацевтичної композиції), яка може стимулювати рецептор CB. Згідно з одним із варіантів реалізації рецептор являє собою рецептор CB2.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропоновано застосування сполуки згідно з даним винаходом для отримання лікарського засобу для лікування ушкодження головного мозку.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропоновано застосування сполуки згідно з даним винаходом для отримання лікарського засобу для зниження вторинної шкоди, викликані травмою мозку.

Згідно з одним із аспектів у винаході запропоновано застосування сполуки згідно з даним винаходом для отримання фармацевтичної композиції для стимуляції росту кісток, кісткової маси, регенерації кісті або попередження втрати кісткової маси.

Згідно з іншим аспектом винаходу запропоновано сполуку згідно з даним винаходом, застосовувати для стимуляції росту кісток, кісткової маси, регенерації кісті або попередження втрати кісткової маси.

Згідно з одним із аспектів у винаході запропонований спосіб стимуляції росту кісток, кісткової маси, регенерації кісті або попередження втрати кісткової маси, який включає

введення суб'єкту, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості щонайменше однієї сполуки згідно з даним винаходом.

Згідно з деякими варіантами реалізації зазначена стимуляція росту кісток, кісткової маси, регенерації кістки або попередження втрати кісткової маси пов'язана з лікуванням щонайменше одного захворювання або розладу, обраного з остеопенії, остеопорозу, перелому кістки або дефіциту кісткової тканини, первинного або вторинного гіперпаратиреоїдизму, остеоартриту, пародонтозу або періодонтального розладу, остеолітичної втрати кісткової маси, наслідків пластичної хірургії, наслідків ортопедичної хірургії, наслідків щелепно-лицьової хірургії, наслідків ортопедичної імплантації й наслідків зубної імплантації, первинного або метастатичного раку кістки, остеомієліту або будь-яких їх комбінацій.

Згідно з іншими варіантами реалізації щонайменше одне зазначене захворювання або розлад обраний із остеопенії і остеопорозу.

Розуміють, що термін "стимуляція росту кісток, кісткової маси, регенерації кістки" включає будь-яке кількісне і/або якісне прискорення росту кісткової тканини, будь-яке кількісне і/або якісне збільшення маси кісткової тканини й будь-яке кількісне і/або якісне прискорення регенерації кістки (наприклад, у випадку ушкодження або перелому кісткової тканини, наприклад, після впливу або в результаті захворювання, стану або будь-якого побічного ефекту зовнішнього лікування) у хребетних на будь-якій стадії розвитку (від ембріональної стадії до старості). Згідно з деякими варіантами реалізації фармацевтична композиція призначена для збільшення кісткової маси в суб'єкта, який цього потребує. Згідно з іншими варіантами реалізації фармацевтична композиція призначена для прискорення регенерації кістки.

Розуміють, що термін "запобігання втрати кісткової маси" включає будь-яке кількісне і/або якісне стримування втрати кісткової тканини у хребетних на будь-якій стадії розвитку (від ембріональної стадії до старості).

Необмежуваними прикладами медичних станів, на які сприятливо впливають стимуляція росту кістки, приріст кісткової маси, профілактика й відновлення втрати кісткової маси та регенерація кісткової маси, є остеопенія, остеопороз, перелом кістки або дефіцит кісткової тканини, первинний або вторинний гіперпаратиреоїдизм, остеоартрит, пародонтоз або періодонтальний розлад, остеолітична втрата кісткової маси, наслідки пластичної хірургії, наслідки ортопедичної хірургії, наслідки щелепно-лицьової хірургії, наслідки ортопедичної імплантації та наслідки зубної імплантації, первинний або метастатичний рак кістки, остеомієліт або будь-яка їхня комбінація. Згідно з деякими варіантами реалізації медичний стан, на який сприятливо впливає стимуляція росту кістки, являє собою остеопенію або остеопороз.

Варто розуміти, що фармацевтичні композиції, які містять сполуку згідно з даним винаходом, включають суміші сполук згідно з даним винаходом з фармацевтично прийнятними допоміжними речовинами й, можливо, іншими терапевтичними агентами. Допоміжні речовини повинні бути "прийнятними" з точки зору сумісності з іншими інгредієнтами композиції і нешкідливості для споживачів.

Фармацевтичні композиції включають композиції, підходящі для перорального, ректального, назального, місцевого (включаючи черезшкірне, трансбукальне і під'язичне), вагінального або парентерального (включаючи підшкірне, внутрішньом'язове, внутрішньовенне або внутрішньошкірне) введення або введення у вигляді імплантату. Композиції можна отримувати за допомогою будь-яких способів, добре відомих у області фармацевтики. Ці способи включають стадію змішання сполук, застосовуваних згідно з даним винаходом, або їх комбінацій із допоміжним агентом.

Допоміжний(і) агент(и), також називаний(і) додатковим(и) агентом(ами), включає(ють) агенти, загальноприйняті в даній області, такі як носії, наповнювачі, зв'язуючі речовини, розріджувачі, розпушувачі, змазки, барвники, ароматизатори, антиоксиданти і зволожувачі.

Фармацевтичні композиції, підходящі для перорального введення, можуть бути представлені у вигляді роздільних дозованих форм, таких як пігулки, таблетки, драже чи капсули або у вигляді порошку чи гранул, або у вигляді розчину чи суспензії. Активний інгредієнт також може бути присутнім у вигляді болюса або пастки. Композиції можна додатково обробляти з отриманням супозиторіїв або клізм для ректального введення.

Винахід також включає фармацевтичну композицію, описану вище в даній заявці, у комбінації з пакувальним матеріалом, включаючи інструкції із застосування композиції згідно з представленим вище описом.

Підходящі для парентерального введення композиції включають водні та неводні стерильні ін'єкції. Композиції можуть бути представлені в однодозових або багатовдозових контейнерах, наприклад, у герметичних пробірках або ампулах, також можуть зберігатися у висушеному на

холоді (ліофілізованому) стані, який потребує тільки додавання стерильного рідкого носія, наприклад, води, перед застосуванням.

Для черезшкірного введення можна описати, наприклад, гелі, пластирі або спреї. Композиції або склади, підходящі для внутрішньолегового введення, наприклад, шляхом назальної інгаляції, включають дрібнодисперсні порошки або аерозолі, які вводять за допомогою аерозольного дозуючого інгалятора під тиском, небулайзера або інсуфлятора.

Точна доза і режим введення композиції, безумовно, залежать від необхідної терапевтичної або нутрицевтичної дії і можуть змінюватися в залежності від конкретної формули, способу введення й віку і стану конкретного суб'єкта, якому вводять композицію.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропонований спосіб стимуляції рецептора CB у суб'єкта, який цього потребує, який включає введення зазначеному суб'єкту терапевтично ефективної кількості сполуки згідно з даним винаходом. Згідно з одним із варіантів реалізації зазначений рецептор CB являє собою рецептор CB2.

Згідно з одним із аспектів у винаході запропонований спосіб лікування захворювання, розладу або стану, обраного із запалення, болю, алергії, неврологічних і нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкоджень мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу; розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артрити і нудоти або будь-якої їх комбінації, який включає введення суб'єкту, що цього потребує, ефективної кількості сполуки згідно з даним винаходом.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропонований спосіб лікування ушкодження головного мозку у суб'єкта, що цього потребує, який включає введення зазначеному суб'єкту ефективної кількості сполуки згідно з даним винаходом. Згідно з одним із варіантів реалізації зазначене ушкодження головного мозку обране із закритого ушкодження голови, проникаючого ушкодження голови, контузії, церебральної ішемії-реперфузії, постопераційного ушкодження мозку, крововиливу в мозок.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропонований спосіб зниження вторинної шкоди, викликані травмою мозку, у суб'єкта, що цього потребує, який включає введення зазначеному суб'єкту ефективної кількості сполуки згідно з даним винаходом.

Згідно з іншим аспектом у винаході запропонований спосіб впливу на утворення цАМФ у суб'єкта, що цього потребує, який включає введення зазначеному суб'єкту ефективної кількості сполуки згідно з даним винаходом.

Варто розуміти, що дія сполуки згідно з даним винаходом, називана "впливом на утворення цАМФ", описує стимуляцію або інгібування індукованого форсколіном накопичення цАМФ.

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Для розуміння винаходу і реалізації його на практиці далі будуть описані варіанти реалізації за допомогою винятково необмежуваних прикладів з посиланням на додані креслення, в яких:

На Фіг. 1A-1G представлені графіки зв'язування GTP γ S рецептора CB2 людини сполуками згідно з даним винаходом: HU-308 (Фіг. 1A), HU-909 (Фіг. 1B), HU-910 (Фіг. 1C), HU-911 (Фіг. 1D), HU-913 (Фіг. 1E), HU-926 (Фіг. 1F) і HU-928 (Фіг. 1G). Дані представлені як зв'язування [35 S]GTP γ S, віднесене до максимального зв'язування HU-308 в аналогічних експериментальних умовах.

На Фіг. 2 представлений рівень відновлення (виміряний як Δ NSS (рівень неврологічних симптомів (Neurological Severity Score)) = NSS(1 год)-NSS(t)) у період між 24 годинами і 21 днем після закритої травми голови (CHI) у груп, яким вводили різні дози HU-910 (14b), (с1 = 0,1 мг/кг, с2 = 1 мг/кг, с3 = 10 мг/кг, ін'єційовані інтраперитонеально (i.p.) через 1 годину після CHI). Контрольній групі (нос.) вводили тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у відношенні 1:1:18).

На Фіг. 3 представлений рівень відновлення (виміряний як Δ NSS (рівень неврологічних симптомів) = NSS(1 год)-NSS(t)) у період між 24 годинами і 14 днем після закритої травми голови (CHI) у груп, яким вводили: 10 мг/кг HU-910 (14b) (ін'єційовані i.p. через 1 годину після CHI), 1 мг/кг антагоніста CB2 SR144528 індивідуально, 1 мг/кг антагоніста CB2 SR144528 і 10 мг/кг HU-910 через 10 хвилин). Контрольній групі (нос.) вводили тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18).

На Фіг. 4 представлено відновлення чотирьох груп, виміряне як Δ NSS (вимірюваний як Δ NSS (рівень неврологічних симптомів) = NSS(1 год)-NSS(t)) у період між 1 годиною і 28 днем після CHI.

На Фіг. 5 представлена оцінка рівня неврологічних симптомів (Δ NSS = NSS(1 год)-NSS(t)) у період між 24 год і 21 днем після CHI.

На Фіг. 6 представлений рівень відновлення чотирьох груп (виміряний як $\Delta\text{NSS} = \text{NSS}(1 \text{ год}) - \text{NSS}(t)$), у період між 24 год і 28 днем після CHI).

На Фіг. 7 представлена оцінка рівня неврологічних симптомів (NSS) у період між 1 год і 14 днем після CHI.

На Фіг. 8A-8D представлено продукування ФНП- α після CHI у лівій долі (Фіг. 8A), лівому гіпокампі (Фіг. 8B), правій долі (Фіг. 8C) і правому гіпокампі (Фіг. 8D).

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВАРІАНТІВ РЕАЛІЗАЦІЇ

У наступних Прикладах представлені способи, застосовувані авторами даного винаходу, при реалізації аспектів даного винаходу. Варто розуміти, що незважаючи на те, що ці способи є типовими для переважних варіантів реалізації даного винаходу, фахівцям у даній області з урахуванням даного опису стане зрозумілим, що можна зробити ряд модифікацій у рамках суті й об'єму винаходу.

Приклад 1: Способи отримання

Матеріали і методи

Усі реагенти придбали в Sigma-Aldrich (Ізраїль) і Acros (Ізраїль) і застосовували без додаткового очищення. (\pm)-Камфору й (+)-3-бромкамфору придбали в Sigma-Aldrich (Ізраїль). (\pm)-Камфор-10-сульфонілхлорид і (\pm)-камфорхінон придбали в Acros (Ізраїль).

Усі розчинники придбали в Bio-Lab (Ізраїль).

Усі безводні реакції проводили в атмосфері азоту в стерилізованому полум'ям лабораторному посуді із застосуванням безводних розчинників.

Силікагель 60Å 0,063-0,2 меш придбали в BioLab (Ізраїль) і застосовували для колонкової хроматографії.

Препаративну тонкошарову хроматографію (ТШХ) проводили на пластинах із силікагелем PLC 60Å F₂₅₄, 2 мм, придбаних в Merck (Німеччина).

Чистоту проміжних речовин і кінцевих сполук установлювали за допомогою аналітичної ТШХ на алюмінієвих пластинах з покриттям силікагелю 60Å, F₂₅₄, 200 мкм, придбаних у Merck (Німеччина), хроматограми проявляли в ультрафіолеті й за допомогою фосфомолібденової кислоти.

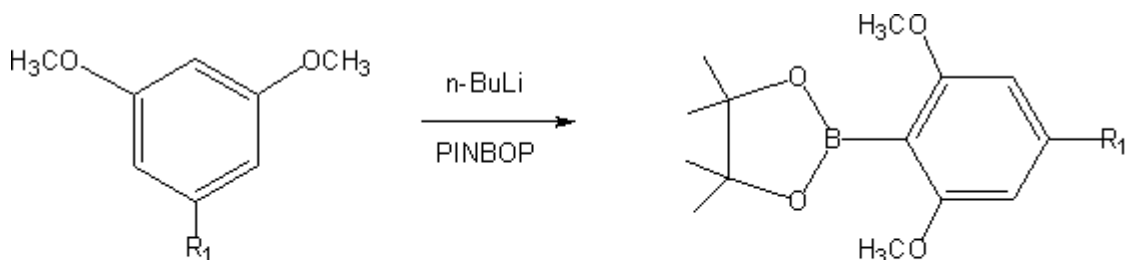
Температуру плавлення визначали за допомогою капілярного електротермального пристрою для визначення температури плавлення, значення не коректували.

Спектри ¹H ЯМР отримували на спектрометрі Varian Unity Nova 300 МГц і обраховували за допомогою програмного забезпечення MestReC. Усі спектри ЯМР отримували із застосуванням CDCl₃ як розчинника, якщо не зазначено інше, хімічні зсуви представлені в ppm відносно тетраметилсилану, застосовуваного як зовнішній стандарт. Мультиплетність представлена як s (синглет), d (дублет), dd (дублет дублетів), ddd (дублет дублетів дублетів), dddd (дублет дублетів дублетів дублетів), t (триплет), m (мультиплет), а константи спин-спінової взаємодії (J) представлені в герцах (Гц).

Мас-спектри отримували на PX/MC системі Hewlett-Packard G2000 з газовим хроматографом HP-5971 з детектором із йонізацією електронним ударом.

Елементний аналіз проводили на аналізаторі Perkin-Elmer 2400 series у мікроаналітичній лабораторії кафедри хімії Ієрусалимського університету.

Приклади отримання Сполук (3) і (4):



1 - R₁: 1',1'-диметилгептил

2 - R₁: n-пентил

3- R₁: 1',1'-диметилгептил (DMH)

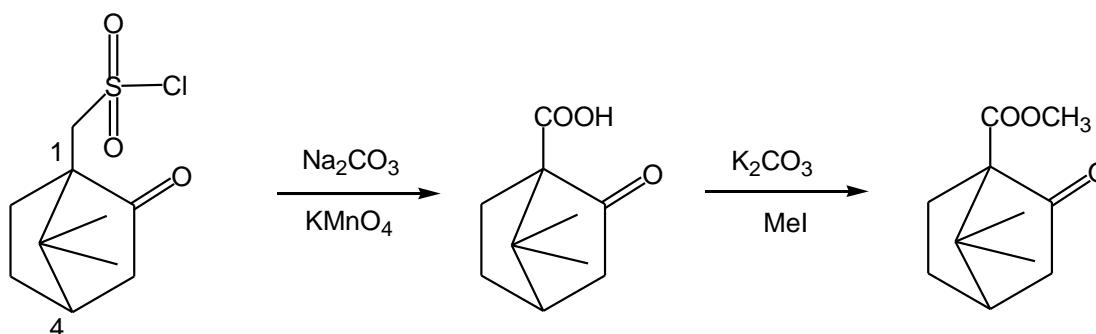
4- R₁: n-пентил(C₅H₁₁)

2-(2,6-диметокси-4-(2-метилгептан-2-іл)феніл)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан. (3). До розчину диметилового ефіру 4-алкілрезорцину 1 (0,132 г, 0,5 ммоль) у 4 мл ТГФ додавали n-BuLi (0,34 мл, 0,55 ммоль, 1,6М розчин у гексані) при 0 °C. Після додаткового перемішування

протягом 1 години при 0 °С реакційну суміш охолоджували до -78 °С і повністю за один раз додавали розчин PINBOR (0,15 мл, 0,75 ммоль). Реакційну суміш залишали нагріватися до кімнатної температури й продовжували перемішування протягом ночі. Реакційну суміш обробляли водним NH₄Cl, екстрагували 3 порціями діетилового ефіру, потім промивали сольовим розчином і водою. Органічну фазу сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі. Продукт отримували у вигляді 0,19 г нероздільної суміші пінаколарилборонату 3 і диметилового ефіру 4-алкілпрезорцину 1 (у співвідношенні 4:3 за даними аналізу PX-MC) і застосовували, як таку, у реакції сполучення за Сузукі. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,41 (s, 2H), 3,76 (s, 6H), 1,51-1,58 (m, 2H), 1,37 (s, 6H), 1,25 (s, 6H), 1,24 (s, 6H), 1,13-1,21 (m, 8H), 0,84 (t, J = 6,87 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₃₄O₃ m/e 390,29; експериментальна 390,80.

2-(2,4-пентилфеніл)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан (4). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу для отримання сполуки 3, застосовуючи диметиловий ефір 4-алкілпрезорцину 2 (0,104 г, 0,5 ммоль) у 4 мл ТГФ, n-BuLi (0,34 мл, 0,55 ммоль, 1,6М розчин у гексані) і PINBOR (0,15 мл, 0,75 ммоль). Продукт отримували у вигляді 0,165 г нероздільної суміші пінаколарилборонату 4 і диметилового ефіру 4-алкілпрезорцину 2 (у співвідношенні 4:3 за даними аналізу PX-MC) і застосовували, як таку, у реакції сполучення за Сузукі. ¹H NMR (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,28 (s, 2H), 3,76 (s, 6H), 2,55 (t, J = 7,53 Гц, 2H), 1,55-1,63 (m, 2H), 1,27 (s, 6H), 1,26 (s, 6H), 1,24 (m, 4H), 0,87 (m, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₃₄O₃ m/e 334,23; експериментальна 334,62.

Приклади отримання Сполуки (7):



5a-(1R,4S)

5b-(1S,4R)

6a-(1R,4S)

6b-(1S,4R)

7a-(1R,4S)

7b-(1S,4R)

(1R,4S)-метил-7,7-диметил-2-оксобіцикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилат (7a). До суміші кетопінової кислоти 6a (0,182 г, 1 ммоль) і K₂CO₃ (1,1 г, 8 ммоль), яка перемішується в 10 мл ДМФ, додавали Me (0,125 мл, 0,284 г, 2 ммоль). Реакційну суміш залишали перемішуватися протягом 18 годин при температурі навколишнього середовища. Реакційну суміш розчиняли у воді 80 мл і екстрагували в 3x30 мл порціях діетилового ефіру. Органічну фазу промивали насиченим розчином NaHCO₃, сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі з отриманням жовтої маслянистої рідини (0,184 г, 94 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 3,75 (s, 3H), 2,53 (ddd, J = 18,29, 3,7 Гц, 1H), 2,36 (ddd, J = 14,99, 11,82, 3,99 Гц, 1H), 2,10 (t, J = 4,4 Гц, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,92-1,98 (d, J = 18,40 Гц, 1H), 1,79 (ddd, J = 14,16, 9,35, 4,95 Гц, 1H), 1,41 (ddd, J = 12,65, 9,49, 4,26 Гц, 1H), 1,15 (s, 3H), 1,07 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₁₁H₁₆O₃ m/e 196,11; експериментальна 196,22.

(1S,4R)-метил-7,7-диметил-2-оксобіцикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилат (7b). Титульну сполуку отримували з 6b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 7a. Жовта масляниста рідина (96 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 3,75 (s, 3H), 2,53 (ddd, J = 18,29, 3,7 Гц, 1H), 2,36 (ddd, J = 14,99, 11,82, 3,99 Гц, 1H), 2,10 (t, J = 4,4 Гц, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,92-1,98 (d, J = 18,40 Гц, 1H), 1,79 (ddd, J = 14,16, 9,35, 4,95 Гц, 1H), 1,41 (ddd, J = 12,65, 9,49, 4,26 Гц, 1H), 1,15 (s, 3H), 1,07 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₁₁H₁₆O₃ m/e 196,11; експериментальна 196,22.

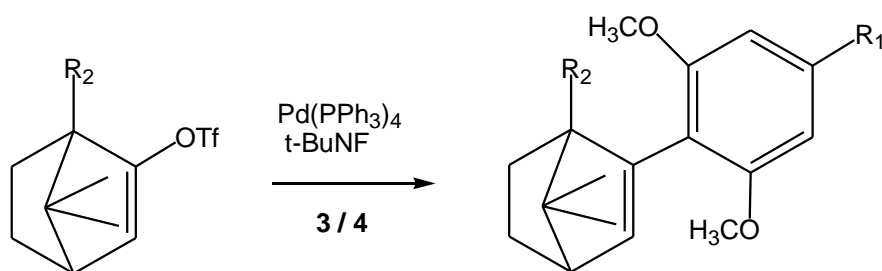
Приклади отримання Сполук (9) і (10):

**7a**-(1R,4S); R₂:COOCH₃**7b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**8a**-(1R,4R); R₂:CH₃**8b**-(1S,4S); R₂:CH₃**9a**-(1R,4S); R₂:COOCH₃**9b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**10a**-(1R,4R); R₂:CH₃**10b**-(1S,4S); R₂:CH₃

(1R,4S)-метил-7,7-диметил-2-(трифторметилсульфонілокси)біцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (**9a**). Попередньо охолоджений (0 °C) розчин метилового ефіру **7a** (0,06 г, 0,3 ммоль) у 1,5 мл ТГФ додавали до розчину LDA (0,17 мл, 0,34 ммоль, 2М розчин) у 2 мл ТГФ при -78 °C, і отриманий розчин залишали перемішуватися протягом 2 годин. Додавали розчин фенілтрифлімід (0,115 г, 0,32 ммоль) у 2 мл ТГФ і реакційну суміш перемішували при 0 °C протягом 3 годин і додатково залишали перемішуватися при кімнатній температурі протягом 15 годин. Після видалення розчинника на роторному випарнику отриману жовту маслянисту рідину очищали шляхом хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) з отриманням коричнеуватої маслянистої рідини (0,07 г, 71 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 5,81 (d, J = 3,74, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,51 (t, J = 3,67 Гц, 1H), 2,39 (ddd, J = 3,71, 8,76, 12,47 Гц, 1H), 2,03-2,13 (m, 1H), 1,65 (ddd, J = 3,68, 9,18, 12,65 Гц, 1H), 1,24 (ddd, J = 3,72, 9,18, 12,64 Гц, 1H), 1,11(s, 3H), 0,97 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₁₂H₁₅F₃O₅S, m/e 328,06; експериментальна 328,44.

(1S,4R)-метил-7,7-диметил-2-(трифторметилсульфонілокси)біцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (**9a**). Титульну сполуку отримували з **7b** за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **9a**. Коричнеувата масляниста рідина (68 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 5,81 (d, J = 3,74, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,51 (dd, J = 3,67, 3,67 Гц, 1H), 2,39 (ddd, J = 3,71, 8,76, 12,47 Гц, 1H), 2,03-2,13 (m, 1H), 1,65 (ddd, J = 3,68, 9,18, 12,65 Гц, 1H), 1,24 (ddd, J = 3,72, 9,18, 12,64 Гц, 1H), 1,11(s, 3H), 0,97 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₁₂H₁₅F₃O₅S, m/e 328,06; експериментальна 328,44.

Способи отримання Сполук (11), (12) і (13):

**9a**-(1R,4S); R₂:COOCH₃**9b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**10a**-(1R,4R); R₂:CH₃**10b**-(1S,4S); R₂:CH₃**11a**-(1R,4S); R₁:DMH; R₂:COOCH₃**11b**-(1S,4R); R₁:DMH; R₂:COOCH₃**12a**-(1R,4R); R₁:DMH; R₂:CH₃**12b**-(1S,4S); R₁:DMH; R₂:CH₃**13a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁; R₂:COOCH₃**13b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁; R₂:COOCH₃

(1R,4S)-метил-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (11a). 0,474 г пінаколарилборонату 3 (у суміші з диметилловим ефіром 4-алкілрезорцину 1), трифлат енолу 9a (0,328 г, 1,00 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (0,07 г, 0,006 ммоль) і t-BuNF (1,5 мл, 1,5 ммоль, 1М розчин у ТГФ) в 15 мл ТГФ кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 15 годин. Реакційну суміш фільтрували через Целіт і фільтрат концентрували у вакуумі. Додаткове очищення шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) призводило до отримання цільового продукту у вигляді світло-жовтої маслянистої рідини (0,288 г, 65 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,45 (s, 2H), 6,28 (d, J = 3,42 Гц, 1H), 3,72 (s, 6H), 3,45 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,13-1,22 (m, 7H), 1,11 (s, 3H), 0,98-1,08 (m, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,84 (t, J = 6,79 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₈H₄₂O₄, m/e 442,31; експериментальна 442,92. Елем. аналіз, розрахований для C₂₈H₄₂O₄: C, 75,98; H, 9,56; експериментальний: C, 76,14; H, 9,65.

(1R,4S)-метил-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (11b, HU-912). Титульну сполуку отримували з 9b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 11a. Жовтувата масляниста рідина (69 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,45 (s, 2H), 6,28 (d, J = 3,42 Гц, 1H), 3,72 (s, 6H), 3,45 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,13-1,22 (m, 7H), 1,11 (s, 3H), 0,98-1,08 (m, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,84 (t, J = 6,79 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₈H₄₂O₄, m/e 442,31; експериментальна 442,91. Елем. аналіз, розрахований для C₂₈H₄₂O₄: C, 75,98; H, 9,56; експериментальний: C, 75,58; H, 9,70.

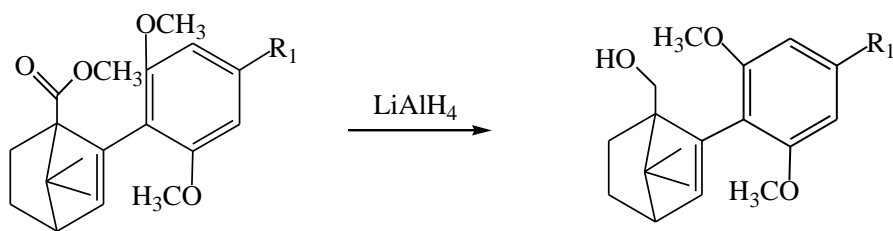
(1R,4S)-метил-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (13a, HU-971). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 11a (HU-911), із застосуванням пінаколарилборонату 4 (у суміші з 2, 0,244 г), трифлату енолу 9a (0,2 г, 0,61 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (0,042 г, 0,037 ммоль) і t-BuNF (0,91 мл, 0,91 ммоль, 1М розчин у ТГФ) з отриманням безбарвної маслянистої рідини (170 мг, 72 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,26 (d, J = 3,42 Гц, 1H), 3,71 (s, 6H), 3,47 (s, 3H), 2,55 (t, J = 7,70 Гц, 2H), 2,38-2,46 (m, 2H), 1,81-2,03 (m, 2H), 1,56-1,66 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,12 (s, 3H, син), 1,07-1,16 (m, 1H), 0,97 (s, 3H, анти), 0,90 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₄H₃₄O₄ за допомогою спільного способу, описаного для cотро₄O₄: C, 74,58; H, 8,87; експериментальна: C, 74,61; H, 9,04.

(1S,4R)-метил-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат (13b, HU-972). Титульну сполуку отримували з 9b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 13a (HU-971). Безбарвна масляниста рідина (69 %). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,26 (d, J = 3,42 Гц, 1H), 3,71 (s, 6H), 3,47 (s, 3H), 2,55 (t, J = 7,70 Гц, 2H), 2,38-2,46 (m, 2H), 1,81-2,03 (m, 2H), 1,56-1,66 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,12 (s, 3H, син), 1,07-1,16 (m, 1H), 0,97 (s, 3H, анти), 0,90 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₄H₃₄O₄, m/e 386,25; експериментальна 386,67. Елем. аналіз, розрахований для C₂₄H₃₄O₄: C, 74,58; H, 8,87; експериментальний: C, 74,31; H, 8,90.

(1R,4R)-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен (12a, HU-907). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 11a, із застосуванням пінаколарилборонату 3 (у суміші з 1, 0,755 г), енолтрифлату камфори 10a (0,5 г, 1,76 ммоль), Pd(PPh₃)₄ (0,122 г, 0,011 ммоль) і t-BuNF (2,64 мл, 2,64 ммоль, 1М розчин у ТГФ) з отриманням жовтуватої маслянистої рідини (0,525 г, 75 %), яка затвердівала при витримуванні при -20 °C з отриманням жовтої твердої речовини. T_{пл} 34-36 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,87 (d, J = 3,27 Гц, 1H), 3,74 (s, 6H), 2,37 (t, J = 3,46, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,30 (s, 6H), 1,15 (m, 1H), 1,19-1,26 (m, 6H), 1,07-1,18 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (t, J = 6,71 Гц, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₄₂O₂, m/e 398,32; експериментальна 398,79. Елем. аналіз, розрахований для C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62; експериментальний: C, 81,08; H, 10,69.

(1S,4S)-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен (12b, HU-908). Титульну сполуку отримували з 10b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 12a (HU-907). Біла тверда речовина (81 %). T_{пл} 35-37 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,87 (d, J = 3,27 Гц, 1H), 3,74 (s, 6H), 2,37 (t, J = 3,46, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,30 (s, 6H), 1,15 (m, 1H), 1,19-1,26 (m, 6H), 1,07-1,18 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (t, J = 6,71 Гц, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₄₂O₂, m/e 398,32; експериментальна 398,79. Елем. аналіз, розрахований для C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62; експериментальний: C, 81,47; H, 10,85.

Приклади отримання Сполук (14) і (15):

**11a**-(1R,4S); R₁:DMH**11b**-(1S,4R); R₁:DMH**13a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁**13b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁**14a**-(1R,4S); R₁:DMH**14b**-(1S,4R); R₁:DMH**15a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁**15b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

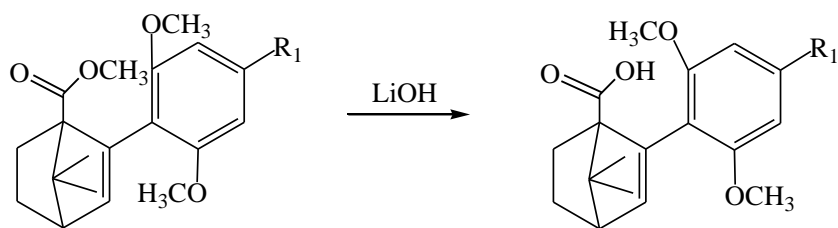
(1R,4S)-(2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол (**14a**, HU-909). Розчин метилового складного ефіру **11a** (0,790 г, 1,79 ммоль) у 20 мл ТГФ охолоджували до 0 °С. Після додавання LiAlH₄ (3,58 мл, 3,58 ммоль, 1М розчин у діетиловому ефірі) реакційну суміш залишали нагріватися до температури навколишнього середовища й перемішували протягом 18 годин. Реакційну суміш обробляли невеликою кількістю насиченого розчину MgSO₄ і екстрагували в етилацетаті. Органічну фазу промивали сольовим розчином і водою, сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі. Продукт очищали шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) із отриманням маслянистої рідини (0,460 г, 62 %), яка затвердівала при витримуванні при -20 °С з отриманням жовтої твердої речовини. T_{пл} 49-51 °С; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,52 (s, 2H), 5,90 (d, J = 3,24 Гц, 1H), 3,75 (s, 6H), 3,65 (m, 2H), 2,35 (t, J = 3,39, 1H), 2,25 (dd, J = 7,29, J = 5,01, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,53-1,59 (m, 5H), 1,27 (s, 6H), 1,21 (s, 3H), 1,0-1,19 (m, 7H), 0,94 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,71 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₄₂O₃ m/e 414,31; експериментальна 414,87. Елем. аналіз, розрахований для C₂₇H₄₂O₃: C, 78,21; H, 10,21; експериментальний: C, 78,31; H, 10,31.

(1S,4R)-(2-(2,6-диметокси-4-(2-метилокси-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол (**14b**, HU-910). Титульну сполуку отримували з **11b** (HU-912) за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **14a** (HU-909). Біла тверда речовина (64 %). T_{пл} 48-50 °С; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,52 (s, 2H), 5,90 (d, J = 3,24 Гц, 1H), 3,75 (s, 6H), 3,65 (m, 2H), 2,35 (t, J = 3,39, 1H), 2,25 (dd, J = 7,29, J = 5,01, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,53-1,59 (m, 5H), 1,27 (s, 6H), 1,21 (s, 3H), 1,0-1,19 (m, 7H), 0,94 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,71 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₇H₄₂O₃ m/e 414,31; експериментальна 414,86. Елем. аналіз, розрахований для C₂₇H₄₂O₃: C, 78,21; H, 10,21; експериментальний: C, 78,08; H, 10,32.

(1R,4S)-(2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол (**15a**, HU-969). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **14a** (HU-909), із застосуванням метилового складного ефіру **13a** (HU-971) (0,1 г, 0,259 ммоль) у 3 мл сухого ТГФ і LiAlH₄ (0,51 мл, 0,518 ммоль, 1М розчин у діетиловому ефірі). Продукт очищали шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) з отриманням маслянистої рідини (0,086 г, 93 %), яка затвердівала при витримуванні при -20 °С з отриманням білої твердої речовини. T_{пл} 28-29 °С; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,40 (s, 2H), 5,88 (d, J = 3,24 Гц, 1H), 3,74 (s, 6H), 3,65 (d, J = 2,51 Гц, 2H), 2,58 (t, J = 7,70 Гц, 2H), 2,35 (t, J = 3,41 Гц, 1H), 1,89-1,98 (m, 1H), 1,54-1,66 (m, 4H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,11-1,19 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₃H₃₄O₃ m/e 358,25; експериментальна 358,67. Елем. аналіз, розрахований для C₂₃H₃₄O₃: C, 77,05; H, 9,56; експериментальний: C, 77,06; H, 9,72.

(1S,4R)-(2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол (**15b**, HU-970). Титульну сполуку отримували з **10b** за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **13b** (HU-972). Масляниста рідина (83 %), яка затвердівала при витримуванні при -20 °С. T_{пл} 26-27 °С; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,40 (s, 2H), 5,88 (d, J = 3,24 Гц, 1H), 3,74 (s, 6H), 3,65 (d, J = 2,51 Гц, 2H), 2,58 (t, J = 7,70 Гц, 2H), 2,35 (t, J = 3,41 Гц, 1H), 1,89-1,98 (m, 1H), 1,54-1,66 (m, 4H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,11-1,19 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₃H₃₄O₃ m/e 358,25; експериментальна 358,71. Елем. аналіз, розрахований для C₂₃H₃₄O₃: C, 77,05; H, 9,56; експериментальний: C, 76,25; H, 9,55.

Приклади отримання сполук (16) і (17):

**11a**-(1R,4S); R₁:DMH**11b**-(1S,4R); R₁:DMH**13a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁**13b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁**16a**-(1R,4S); R₁:DMH**16b**-(1S,4R); R₁:DMH**17a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁**17b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

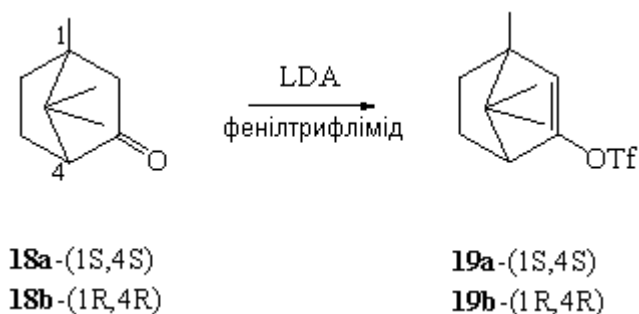
(1R,4S)-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота (**16a**, HU-913). Метилловий ефір **11a** (HU-911) (0,103 г, 0,233 ммоль) і LiOH (0,111 г, 4,66 ммоль) у 2 мл MeOH/H₂O 3:1 нагрівали при 200 °C протягом 48 годин у пробірці з кришкою, яка закручується, в атмосфері повітря. Воду додавали до реакційної суміші й екстрагували кілька разів у діетиловому ефірі. Органічні фази збирали, сушили над MgSO₄ і концентрували у вакуумі. Продукт очищали шляхом препаративної ТШХ (гексан/етилацетат) з отриманням жовтої твердої речовини (0,026 г, 26 %). Т_{пл} 101-102 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,46 (s, 2H), 6,32 (d, J = 3,40 Гц, 1H), 3,71 (s, 6H), 2,46 (t, J = 3,44 Гц, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,16-1,24 (m, 7H), 1,14 (s, 3H), 1,03-1,12 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,74 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₈H₄₂O₄ m/e 428,29; експериментальна 428,98. Елем. аналіз, розрахований для C₂₈H₄₂O₄: C, 75,66; H, 9,414 експериментальний: C, 75,50; H, 9,48.

(1S,4R)-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота (**16b**, HU-914). Титульну сполуку отримували з **11b** (HU-912) за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **16a** (HU-913). Жовта тверда речовина (25 %). Т_{пл} 100-101 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,46 (s, 2H), 6,32 (d, J = 3,40 Гц, 1H), 3,71 (s, 6H), 2,46 (t, J = 3,44 Гц, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,16-1,24 (m, 7H), 1,14 (s, 3H), 1,03-1,12 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,74 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₈H₄₂O₄ m/e 428,29; експериментальна 428,98. Елем. аналіз, розрахований для C₂₈H₄₂O₄: C, 75,66; H, 9,414 експериментальний: C, 74,81; H, 9,40.

(1R,4S)-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота (**17a**, HU-973). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **16a** (HU-913), із застосуванням метилового ефіру **13a** (HU-971) (0,075 г, 0,194 ммоль) і LiOH (0,093 г, 3,89 ммоль) у 1,5 мл MeOH/H₂O 3:1. Продукт очищали шляхом препаративної ТШХ (гексан/етилацетат) з отриманням жовтуватої твердої речовини (0,010 г, 14 %). Т_{пл} 85-87 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,28 (d, J = 3,39 Гц, 1H), 3,69 (s, 6H), 2,55 (t, J = 7,80 Гц, 2H), 2,45 (t, J = 3,48 Гц, 1H), 2,36-2,44 (m, 1H), 1,82-2,03 (m, 2H), 1,55-1,65 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,14 (s, 3H), 1,06-1,12 (m, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,90 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₃H₃₂O₄ m/e 372,23; експериментальна 372,92. Елем. аналіз, розрахований для C₂₃H₃₂O₄: C, 74,16; H, 8,66; експериментальний: C, 73,91; H, 8,80.

(1S,4R)-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота (**17b**, HU-974). Титульну сполуку отримували з **13b** (HU-972) за допомогою спільного способу, описаного для сполуки **17a** (HU-973). Жовтувата тверда речовина (21 %). Т_{пл} 84-86 °C; ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,28 (d, J = 3,39 Гц, 1H), 3,69 (s, 6H), 2,55 (t, J = 7,80 Гц, 2H), 2,45 (t, J = 3,48 Гц, 1H), 2,36-2,44 (m, 1H), 1,82-2,03 (m, 2H), 1,55-1,65 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,14 (s, 3H), 1,06-1,12 (m, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,90 (t, J = 6,84 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для C₂₃H₃₂O₄ m/e 372,23; експериментальна 372,92. Елем. аналіз, розрахований для C₂₃H₃₂O₄: C, 74,16; H, 8,66; експериментальний: C, 73,60; H, 8,70.

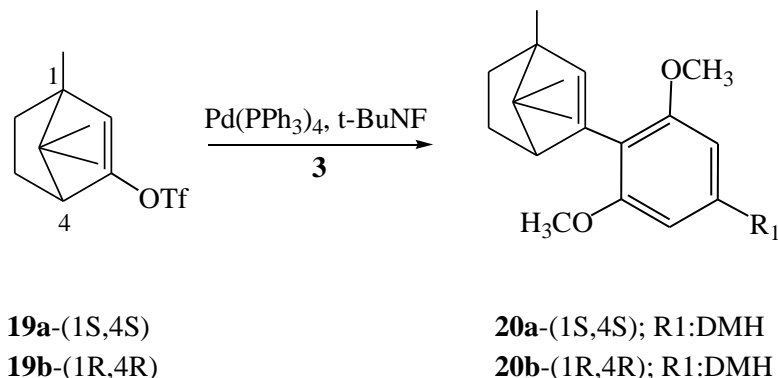
Приклади отримання Сполуки (19):



(1S,4S)-4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл трифторметансульфонат (19a). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 9a, із застосуванням кетона 18a (0,375 г, 2,35 ммоль), LDA (1,29 мл, 2,58 ммоль, 2М розчин) і фенілтрифлімід (0,943 г, 2,64 ммоль). Продукт очищали шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) з отриманням маслянистої рідини (0,514 г, 77 %). ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 5,37 (d, $J=1,04$ Гц, 1H), 2,45 (d, $J=3,48$ Гц, 1H), 1,93 (dddd, $J=3,43, 3,43, 7,85, 11,61$ Гц, 1H), 1,70 (ddd, $J=3,12, 8,52, 11,84$ Гц, 1H), 1,19-1,38 (m, 2H), 1,08 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,78 (s, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{O}_3\text{S}$, 284,07, експериментальна 284,77.

(1R,4R)-4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл трифторметансульфонат (19b). Титульну сполуку отримували з 18b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 19a. Коричневу маслянисту рідину (73 %). ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 5,37 (d, $J=1,04$ Гц, 1H), 2,45 (d, $J=3,48$ Гц, 1H), 1,93 (dddd, $J=3,43, 3,43, 7,85, 11,61$ Гц, 1H), 1,70 (ddd, $J=3,12, 8,52, 11,84$ Гц, 1H), 1,19-1,38 (m, 2H), 1,08 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,78 (s, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{O}_3\text{S}$, 284,07, експериментальна 284,77.

Приклади отримання Сполуки (20):

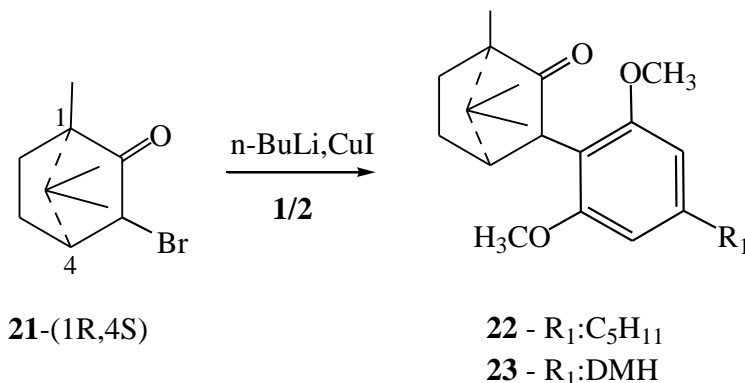


(1S,4S)-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен (20a, HU-917). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 11a (HU-911), із застосуванням пінаколарилборонату 3 (у суміші з диметилним ефіром 4-алкілрезорцину 1, 0,755 г), трифлату енолу 19a (0,17 г, 0,598 ммоль), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0,041 г, 0,036 ммоль) і $t\text{-BuNF}$ (0,9 мл, 0,9 ммоль, 1М розчин у ТГФ). Продукт очищали шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) із отриманням маслянистої рідини (0,185 г, 78 %), яка затвердівала при витримванні при -20°C . $T_{\text{пл}} 33\text{-}34^\circ\text{C}$. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,79 (d, $J=3,00$ Гц, 1H), 3,76 (s, 6H), 2,60 (d, $J=3,51$, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,55 (m, 2H), 1,31 (m, 1H), 1,28 (s, 6H), 1,17-1,25 (m, 8H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,86 (t, $J=6,69$ Hz, 3H), 0,81 (s, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_2$ m/e 398,32; експериментальна 398,82. Елем. аналіз, розрахований для $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_2$: C, 81,35; H, 10,62; експериментальний: C, 81,50; H, 10,71.

(1R,4R)-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен (20b, HU-918). Титульну сполуку отримували з 19b за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 20a (HU-917). Жовтувата тверда речовина (77 %). $T_{\text{пл}} 32\text{-}33^\circ\text{C}$; ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,79 (d, $J=3,00$ Гц, 1H), 3,76 (s, 6H), 2,60 (d, $J=3,51$, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,55 (m, 2H), 1,31 (m, 1H), 1,28 (s, 6H), 1,17-1,25 (m, 8H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,86 (t, $J=6,69$ Гц, 3H), 0,81 (s, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_2$ m/e

398,32; експериментальна 398,84. Елем. аналіз, розрахований для $C_{27}H_{42}O_2$: С, 81,35; Н, 10,624 експериментальний: С, 81,56; Н, 10,85.

Приклади отримання Сполук (22, НУ-936) і (23, НУ-926):

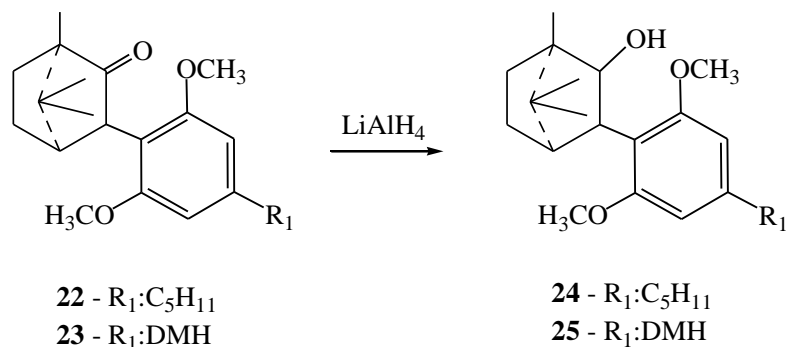


5

(1R,4R)-3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он (22, НУ-936). n-BuLi (0,6 мл, 0,96 ммоль, 1,6М у гексані) додавали до попередньо охолодженого (0 °С) розчину 2 (0,2 г, 0,96 ммоль) у 3 мл діетилового ефіру. Отриманий розчин залишали перемішуватися протягом 2,5 годин при кімнатній температурі. Розчин потім охолоджували до 0 °С і переносили по краплях через шприц у суспензію CuI (0,092 г, 0,48 ммоль) у 2 мл діетилового ефіру при 0 °С. Отриманий розчин залишали перемішуватися протягом 30 хвилин і додавали 5 мл безводного ДМСО. Потім додавали розчин 3-бромкамфори 21 (0,086 г, 0,37 ммоль) у 1 мл діетилового ефіру і 1 мл ДМСО при 0 °С по краплях через мембрану. Реакційну суміш потім залишали нагріватися до кімнатної температури й перемішували протягом 15 годин. Реакцію гасили шляхом додавання 5 мл насиченого водного NH_4Cl . Водну фазу екстрагували тричі в діетиловому ефірі. Об'єднані органічні шари промивали тричі сольовим розчином, сушили над $MgSO_4$ і розчинник видаляли у вакуумі. Додаткове очищення шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) призводило до отримання білих кристалів 22 (НУ-936) (0,093 г, 70 %). $T_{пл}$ 62 °С; 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ ppm 6,37 (s, 2H), 3,89 (d, J=4,23 Гц, 1H), 3,72 (s, 6H), 2,55 (t, J=7,87 Гц, 2H), 2,19 (t, J=4,11 Гц, 1H), 1,71-1,76 (m, 2H), 1,63 (m, 1H), 1,59 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,33-1,36 (m, 4H), 1,02 (s, 3H), 1,002 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,91 (t, J=6,93 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для $C_{23}H_{34}O_3$ m/e 358,25; експериментальна 358,67. Елем. аналіз, розрахований для $C_{23}H_{34}O_3$: С, 77,05; Н, 9,56; експериментальний: С, 77,20; Н, 9,63.

(1R,4R)-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он (23, НУ-926). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 22 (НУ-936), із застосуванням 1 (0,23 г, 0,87 ммоль), n-BuLi (0,54 мл, 0,87 ммоль, 1,6М у гексані), CuI (0,083 г, 0,44 ммоль), 3-бромкамфори 21 (0,069 г, 0,3 ммоль). Додаткове очищення шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (петролейний ефір/діетиловий ефір) з отриманням білих кристалів 23 (НУ-926) (0,081 г, 65 %). $T_{пл}$ 64-65 °С; 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ ppm 6,49 (s, 2H), 3,89 (d, J=4,23 Гц, 1H), 3,72 (s, 6H), 2,19 (t, J=4,11 Гц, 1H), 1,71-1,76 (m, 1H), 1,53-1,68 (m, 4H), 1,30-1,42 (m, 1H), 1,26 (s, 6H), 1,15-1,24 (m, 8H), 1,01 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,85 (t, J=6,73 Гц, 3H). Точна маса, розрахована для $C_{27}H_{42}O_3$ m/e 414,31; експериментальна 414,84. Елем. аналіз, розрахований для $C_{27}H_{42}O_3$: С, 78,21; Н, 10,21; експериментальний: С, 78,39; Н, 10,27.

Приклади отримання Сполук (24, НУ-938) і (25, НУ-928):



(1R,4R)-3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол (24, HU-938). Кетон 22 (HU-936) (0,085 г, 0,23 ммоль) у 1 мл діетилового ефіру додавали до попередньо охолодженого (0 °C) розчину LiAlH_4 (0,14 мл, 0,14 ммоль, 1М розчин у діетиловому ефірі) в 2 мл діетилового ефіру. Після перемішування при кип'ятінні протягом 1 години реакційну суміш охолоджували до 0 °C і гасили шляхом додавання EtOAc .

До реакційної суміші додавали воду й екстрагували в 3 порціях діетилового ефіру, потім промивали водною 10 % HCl . Органічну фазу сушили над MgSO_4 і концентрували у вакуумі. Додаткове очищення шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (діетиловий ефір/петролейний ефір) з отриманням білих кристалів 24 (HU-938) (0,078 г, 92 %). $T_{\text{пл}}$ 58-60 °C; ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 6,44 (s, 2H), 4,52 (d, $J=6,96$ Гц, $J=1,87$ Гц, 1H), 4,14-4,17 (m, 2H), 3,82 (s, 6H), 2,56 (t, $J=7,70$ Гц, 2H), 2,19 (t, $J=4,11$ Гц, 1H), 1,77-1,89 (m, 2H), 1,63 (m, 1H), 1,46-1,70 (m, 3H), 1,23-1,41 (m, 4H), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,90 (t, $J=6,93$ Гц, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_3$ m/e 360,27; експериментальна 360,65. Елем. аналіз, розрахований для $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_3$: C, 76,62; H, 10,06; експериментальний: C, 76,46; H, 10,11.

(1R,4R)-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол (25, HU-928). Титульну сполуку отримували за допомогою спільного способу, описаного для сполуки 24 (HU-938), із застосуванням кетона 23 (HU-926) (0,238 г, 0,57 ммоль), LiAlH_4 (0,345 мл, 0,34 ммоль). Додаткове очищення шляхом колонкової хроматографії на силікагелі (діетиловий ефір/петролейний ефір) призводило до отримання білих кристалів 25 (HU-928) (0,208 г, 88 %). $T_{\text{пл}}$ 96-98 °C; ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ ppm 6,55 (s, 2H), 4,58 (dd, $J=8,88$ Гц, 1H), 4,14-4,17 (m, 2H), 3,82 (s, 6H), 1,78-1,88 (m, 2H), 1,48-1,61 (m, 5H), 1,29-1,33 (m, 1H), 1,27 (s, 6H), 1,16-1,25 (m, 7H), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,85 (t, $J=6,74$ Гц, 3H). Точна маса, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$ m/e 416,33; експериментальна 416,90. Елем. аналіз, розрахований для $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$: C, 77,83; H, 10,644 експериментальний: C, 78,10; H, 10,82.

Приклад 2: Зв'язування з канабіноїдними рецепторами *in vitro*

Вирощування і вміст клітинної лінії

Клони кДНК НА-мічених рецепторів CB1 і CB2 людини отримували в Missouri S&T cDNA Resource Center (www.cdna.org) у клонуючому векторі pcDNA3.1+. Вектор, що містить рецептор CB2 людини, трансфікували безпосередньо в клітини CHO-K1, отримані в ATCC. НА-мічену послідовність рецептора CB1 людини субклонували у вектор pef4-V5-HisA із застосуванням рестрикційних ферментів Kpn1 і Pme1 і потім трансфікували в клітини CHO-K1. Клітини розділяли по клонах шляхом обмеженого розведення й досліджували експресію НА-мітки шляхом імуноцитохімії. Клони, які експресували мітку НА, потім досліджували за допомогою ЗТ-ПЛР для підтвердження експресії мРНК рецепторів hCB1 і hCB2 (дані не представлені).

Клітини витримували в середовищі DMEM/F12, яке містить 10 % ембріональної бичачої сироватки (ЕБС), 100 часток/мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину, і 2 мМ L-глутаміну. Трансфіковані клітинні лінії витримували в середовищі, яке додатково містить 150 мкг/мл зеоцину у випадку pEF НА-CB1 трансфікованих клітин, і 500 мкг/мл G-418 у випадку pcDNA НА-CB2 трансфікованих клітин (усі реагенти отримували в Invitrogen).

Отримання мембран

Клітини вирощували до досягнення конфлюентності та збирали в льодяний фосфатний буферний сольовий розчин, який містить 5 мМ ЕДТА. Клітини центрифугували при 200 xg протягом 10 хвилин і заморожували при -80 °C до застосування. Клітинну масу розморожували в холодній 0,32М сахарозі й гомогенізували за допомогою скляного гомогенізатора. Гомогенат центрифугували при 1000 xg протягом 10 хвилин при 4 °C, надосадову рідину центрифугували в ультрацентрифузі Sorvall протягом 30 хвилин при 100000 xg. Потім клітинну масу промивали льодяною водою й двічі повторно центрифугували. Отриману клітинну масу повторно

суспендували в 50 мМ Tris pH 7,5, 0,5 мМ EDTA. Концентрацію білка визначали із застосуванням набору для визначення білків DC (BioRad, Hercules, CA, USA).

Дослідження конкурентного зв'язування з мембранами

Значення K_d CP 55940 у виділених мембранах, які експресують рецептори CB1 і CB2, були визначені раніше й становили 2,3 нМ і 1,5 нМ відповідно (див. Пертві Р.Г. (Pertwee, R.G.) Current Medicinal Chemistry 6 635-664 (1999)). Дослідження конкурентного зв'язування при 2,5 нМ [^3H]-CP 55940 (PerkinElmer) проводили для визначення значень K_i для досліджуваних сполук. Мембрани (5-10 мкг) інкубували з радіолігандом і досліджуваними сполуками в різних концентраціях у буфері для зв'язування (50 мМ Tris pH 7,4, 5 мМ MgCl_2 , 1 мМ EDTA), який містить 0,5 % (мас./об.) альбуміну бичачої сироватки (BSA) (ICP Bio, New Zealand) при 30 °C протягом 60 хвилин. Маткові розчини передбачуваних канабіноїдних лігандів отримували в диметилсульфоксиді в концентрації 10 мМ. Застосовували сполуки в шести різних кінцевих концентраціях у діапазоні від 50 мкМ до 0,1 нМ. Неспецифічне зв'язування визначали в присутності 1 мкМ нерадіоактивних CP 55940 (Tocris Cookson). Дослідження припиняли шляхом додавання 2 мл льодяного буфера для зв'язування й фільтрування через фільтри GF/C (Whatman), змочені в холодному буфері для зв'язування й наступного дворазового промивання тим же буфером.

Радіоактивність визначали шляхом інкубації фільтрів із сцинтиляційною рідиною Irgasafe (PerkinElmer) і сцинтиляційних вимірювань за допомогою Wallac Trilux із застосуванням програмного забезпечення Microbeta Trilux. Дані аналізували із застосуванням програми Prism 4.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Дослідження цАМФ

Клітини в кількості 10000 клітин на лунку поміщали в оброблені полі-L-лізином 96-лункові планшети для культур (BD Biosciences). Наступного дня клітини інкубували в 40 мкл DMEM/F12, що містить 0,5 % (мас./об.) BSA і 0,5 мМ 1-метилксантину (Sigma-Aldrich), протягом 30 хвилин перед 15-хвилинною стимуляцією 50 мМ форсколіну (Tocris Cookson) і досліджуваними сполуками в різних концентраціях при 37 °C, 5 % CO_2 . Дослідження зупиняли шляхом видалення середовища й додавання 100 % льодяного етанолу. Планшети потім заморожували, як мінімум, на дві години перед повним випарюванням етанолу. Вміст лунок потім повторно розчиняли в 50 мкл буфера для дослідження цАМФ (20 нМ HEPES pH 7,5 і 5 мМ EDTA). Половину розчиненого зразка переносили в круглодонні 96-лункові планшети (Greiner Bio-One GmbH), які містять 0,01 % (мас./об.) PKA (цАМФ залежна протеїнкіназа (Sigma-Aldrich)) в 1 мМ цитраті Na pH 6,5, який містить 2 мМ дитіотреїту і 25 мкл [^3H]-цАМФ (з концентрацією 22 нМ у буфері для дослідження цАМФ) (GE Healthcare, Life Sciences), і залишали відстоюватися для встановлення рівноваги протягом 3-18 годин. Потім до зразків додавали суспензію активованого вугілля (5 % (мас./об.) активоване вугілля й 0,2 % (мас./об.) BSA в буфері для дослідження цАМФ) і планшети центрифугували при 3000 хг, 4 °C протягом 5 хвилин. Потім визначали радіоактивність надосадової рідини згідно з описом, представленим для дослідження конкурентного зв'язування.

Дослідження зв'язування мембрани [^{35}S]GTP γ S

Мембрани CHO-K1, які експресують CB2 людини (5 мкг в суміші, що інкубується), розбавляли в 50 мМ Tris-HCl (pH 7,5) і 0,5 мМ EDTA й додавали до НУ-сполук у попередньо перемішаній суміші для інкубування. Кінцеві інкубовані концентрації становили 55 мМ Tris-HCl (pH 7,4), 1 мМ EDTA, 100 мМ NaCl, 5 мМ MgCl_2 , 0,5 % BSA, 50 мкМ GDP, 0,2 нМ [^{35}S]GTP γ S (PerkinElmer) з різними концентраціями НУ-сполук і 5 мкг мембран. Інкубування продовжували протягом 60 хвилин при 30 °C на струшуваній водяній бані. Дослідження припиняли шляхом додавання 2 мл льодяного буфера для промивання (50 мМ Tris-HCl, pH 7,5 і 5 мМ MgCl_2) і фільтрування через попередньо змочені фільтри GF/C (Whatman) з наступними двома промиваннями. Радіоактивність визначали згідно з описом досліджень конкурентного зв'язування.

Статистичний аналіз

Дані аналізували за допомогою програми Prism 4.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Значення IC_{50} і EC_{50} , визначені за сигмоїдальними кривими, отримували для концентрацій лікарських засобів, побудованих на логарифмічній шкалі. Незважаючи на те, що стандартну помилку середнього (SEM) або стандартне відхилення цих значень можна розрахувати, якщо значення представлені в логарифмічній формі, перетворення в мольні (лінійні) значення стає неявним, і помилку неможливо виразити у вигляді "плюс-мінус" розрахованого значення. Існує можливість подання даних у вигляді середнього плюс-мінус стандартна помилка середнього в логарифмічній формі, проте цю величину не просто перевести або порівняти з іншими значеннями. Із цієї причини вирішили розраховувати 95 %

довірчий інтервал для середнього значення в логарифмічній формі, а потім переводити нижню межу, середнє значення і верхню межу в мольну (лінійну) шкалу. Незважаючи на те, що діапазон, описуваний у цьому форматі даних, часто охоплює широкий діапазон концентрацій, він є найбільш легким у використанні способом подання даних, і дані, представлені в цьому розділі, порівнянні з іншими аналогічними опублікованими результатами в достовірних джерелах (Пертві зі співавторами, (Pertwee et al.), 2000). Двосторонні критерії Стюдента для статистичного аналізу енантіомерних пар сполук визначали для значень K_i , CB2. Критерій Пірсона, показник лінійності, визначали для результатів K_i і IC₅₀ або EC₅₀, отриманих для рецепторів CB2, у дослідженнях зв'язування, цАМФ або GTPγS, відповідно. Для визначення значимості розходжень значень E_{max} і значення для HU-308 проводили однофакторний ANOVA з наступним визначенням критерію Бонфероні для обраних пар.

Результати

Ефективність і афінність зв'язування з рецепторами CB1 і CB2

Усі дані аналізували за допомогою Prism 4.02. У випадку даних зв'язування K_i визначали за значеннями IC₅₀, отриманими за даними конкурентного зв'язування, із застосуванням одностороннього порівняльного аналізу нелінійної регресії за допомогою Prism 4.02 із застосуванням значень K_d , отриманих вище.

Значення pIC₅₀ визначали з досліджень цАМФ шляхом побудови сигмоїдальної кривої залежності від концентрації із застосуванням Prism 4.02.

Результати, представлені в Таблицях 1 і 2, отримували шляхом визначення середнього двох незалежних значень pIC₅₀. Дані, представлені у вигляді IC₅₀ (95 % довірчий інтервал). Значення E_{max} розраховували у вигляді відсотка від максимальної відповіді, визначеної в паралельних дослідженнях цАМФ із HU-210 (1,1-диметилгептил-11-гідрокситетрагідроканабінол або (6aR)-транс-3-(1,1-диметилгептил)-6a, 7,10,10a-тетрагідро-1-гідрокси-6,6-диметил-6H-дибензо[b,d]піран-9-метанол) або HU-308 ([[(1R,2R,5R)-2-[2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл]-7,7-диметил-4-біцикло[3.1.1]гепт-3-еніл]метанол) для клітин, які експресують CB1 і CB2 відповідно. Дані представлені у вигляді середнє ± SEM.

Таблиця 1

Ефективність і афінність сполук згідно з даним винаходом відносно рецепторів CB1 і CB2 людини

Сполука	HU	Дослідження конкурентного зв'язування				Дослідження цАМФ					
		Рецептор CB2		Рецептор CB1		Рецептор CB2			Рецептор CB1		
		K_i (нМ)	95 % Довірч. інтервал	K_i (мкМ)	95 % Довірч. інтервал	IC ₅₀ (нМ)	95 % Довірч. інтервал	E_{max}	IC ₅₀ (мкМ)	95 % Довірч. інтервал	E_{max}
12a	HU-907	2514	(829, 7630)	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
12b	HU-908	B3	-	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
14a	HU-909	56,8	(24,4, 132)	11,7	(4,90, 27,9)	425	(233, 774)	95±6 %	B3	-	-
14b	HU-910	6	(5,25, 6)	1,37	(0,53, 3,56)	162	(87,9, 300)	105±12 %	B3	-	-
11a	HU-911	84,6 ^s	(34,9, 204)	B3	-	385	(200, 751)	86±9 %	B3	-	-
11b	HU-912	77,1 ^s	(30,0, 199)	>10мкМ	-	239	(159, 358)	107±4 %	3,37	(2,79, 4,06)	112±8 %
16a	HU-913	81,5	(69,6, 95,6)	B3	-	330	(195, 557)	101±11 %	B3	-	-
16b	HU-914	1500	(870, 2570)	B3	-	2290	(1710, 3050)	82±7 %	B3	-	-
20a	HU-917	B3	-	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
20b	HU-918	B3	-	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
23	HU-926	106	(55,3, 204)	B3	-	321	(203, 511)	100±13 %	B3	-	-
25	HU-928	230	(36,7, 1450)	B3	-	925	(550, 1560)	101±11 %	B3	-	-

Таблиця 1

Ефективність і афінність сполук згідно з даним винаходом відносно рецепторів CB1 і CB2 людини

Сполука	HU	Дослідження конкурентного зв'язування				Дослідження цАМФ					
		Рецептор CB2		Рецептор CB1		Рецептор CB2			Рецептор CB1		
		K _i (нМ)	95 % Довірч. інтервал	K _i (мкМ)	95 % Довірч. інтервал	IC ₅₀ (нМ)	95 % Довірч. інтервал	E _{max}	IC ₅₀ (мкМ)	95 % Довірч. інтервал	E _{max}
22	HU-936	1720	(827, 3560)	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
24	HU-938	7910	(4610, 13600)	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
15a	HU-969	6460	(4800, 7890)	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
15b	HU-970	1270	(634, 2530)	B3	-	1150	(664, 1980)	38±2 %*	B3	-	-
13a	HU-971	704	(314, 1580)	B3	-	1530	(810, 2900)	31±4 %*	B3	-	-
13b	HU-972	168	(115, 247)	B3	-	313	(220, 446)	48±5 %*	B3	-	-
17a	HU-973	1150	(596, 2210)	B3	-	2090	(1340, 3260)	40±6 %*	B3	-	-
17b	HU-974	>10мкМ	-	B3	-	B3	-	-	B3	-	-
	HU-308	14	(8,7, 22,8)	B3	-	117	(89,5, 153)	100±0 %	B3	-	-
	HU-210			0,00294							

Дослідження конкурентного зв'язування проводили з клітинними мембранами СНО-CB1 або СНО-CB2, а дослідження цАМФ - із цільними клітинами, які експресують зазначений рецептор. Дані зв'язування (K_i) і активності (EC₅₀) представлені у вигляді середнього з 95 % довірчим інтервалом у дужках. Похідні дані ефективності цАМФ (E_{max}) представлені у вигляді середнього ± SEM. Усі дані розраховували щонайменше за трьома незалежними повторюваннями. * P<0,01 у порівнянні з E_{max} HU-308. § Пари енантіомерів без статистичного рівня значимості. B3 = Відсутність зв'язування або активності, визначена в концентраціях до 50 мкМ. >10 мкМ = Заміна радіоактивного ліганда, визначена для високих концентрацій конкурентного ліганда, але повні криві заміщення не отримані.

Ефективність зв'язування рецепторів CB2

- Дане дослідження проводили для обраних високоактивних сполук. Значення EC₅₀ визначали в дослідженнях [³⁵S]GTPγS шляхом побудови сигмоїдальних кривих залежності відповіді від концентрації (Таблиця 2 і Фігури 1A-1G). Значення E_{max} розраховували як відсоток від максимальної відповіді, детектованої в паралельних дослідженнях [³⁵S]GTPγS для HU-308. Оскільки значення E_{max} визначені в лінійній шкалі (не log %), вони представлені у вигляді середнього ± SEM. Критерій Пірсона, що становить 0,9268, показував хорошу кореляцію між даними, отриманий шляхом побудови залежності значень K_i сполук від їхніх EC₅₀, визначених шляхом дослідження GTPγS.

Таблиця 2

Ефективність сполук згідно з даним винаходом стосовно рецептора CB2 людини

Сполука	HU	EC ₅₀ (нМ)	E _{max}
14a	HU-909	135,5 (45,4, 404)	76±7 %*
14b	HU-910	26,4 (10,7, 65,5)	121±7 %
11a	HU-911	126,2 (50,7, 315)	94±4 %
16a	HU-913	343,6 (151, 785)	98±3 %
23	HU-926	184,9 (72,1, 474)	51±6 %**
25	HU-928	576,8 (291, 1140)	95±5 %
	HU-308	18,3 (11,6, 28,8)	100±0 %

Дані представлені у вигляді середніх значень EC₅₀ з 95 % довірчим інтервалом, представленим у дужках. Середні значення E_{max} (± SEM) приводили до E_{max} відповіді HU-308. n=5, *P<0,05, **P<0,001.

На Фіг. 1A-1G представлені графіки зв'язування GTPγS рецептора CB2 людини сполуками згідно з даним винаходом: HU-308 (Фіг. 1A), HU-909 (Фіг. 1B), HU-910 (Фіг. 1C), HU-911 (Фіг. 1D), HU-913 (Фіг. 1E), HU-926 (Фіг. 1F) і HU-928 (Фіг. 1G). Дані представлені у вигляді зв'язування [³⁵S]GTPγS, приведеного до максимального зв'язування HU-308 в аналогічних експериментальних умовах.

Приклад 3: Дія HU-910 на закриті ушкодження голови in vitro

Модель закритого ушкодження голови і нейроповедінкова оцінка

Дослідження проводили відповідно до інструкцій Institutional Animal Care Committee of the Hebrew University. У всіх експериментах застосовували самців мишей Sabra з масою від 35 до 50 г. Тварин утримували в керованих умовах зміни дня і ночі з циклом 12год/12год світло/темрява. Експериментальне закриті ушкодження голови (CHI) наносили із застосуванням модифікованого пристрою з падаючим вантажем, розробленим у нашій лабораторії, описаним раніше (Чен зі співавторами (Chen et al.), 1996). Через 1 годину після CHI функціональний стан мишей оцінювали за допомогою комплексу з 10 нейроповедінкових завдань, а саме оцінки рівня неврологічних симптомів (NSS). Ця оцінка основана на здатності мишей виконувати 10 різних завдань (Бені-Адані зі співавторами (Beni-Adani et al.), 2001), у яких оцінюються їхня моторна здатність, баланс і уважність. Одне очко дається за невиконання завдання. Тяжкість ушкодження, яку визначали за початковою NSS, оцінюваною через 1 годину після CHI, є надійним прогнозом подальших результатів. 10 очків відповідає максимальному неврологічному розладу, а зниження NSS під час періоду відновлення свідчить про часткове відновлення функції.

Статистичний аналіз

Дані аналізували за допомогою програми Prism 4.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Дані виражені у вигляді середнє ± SEM, а статистичну значимість визначали за допомогою однофакторного аналізу варіацій (ANOVA) з наступним аналізом Даннета отриманих результатів для рівня ФНП-α. Непараметричні значення NSS порівнювали у двох групах для кожного часового інтервалу. Ці дані аналізували для визначення відмінностей між групами в конкретний інтервал (а не в залежності від часу всередині групи). Таким чином, тести Манна-Уїтні застосовували для проведення порівняння.

In vivo експеримент 1:

У цьому дослідженні чотирьом групам мишей наносили CHI (n=10/групу, у контрольному випробуванні n=9), після чого вводили наступні агенти:

- Група 1 (Контроль): тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), через 1 год. після CHI.
- Група 2: HU-910, 0,1 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.
- Група 3: HU-910, 1,0 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.
- Група 4: HU-910, 10,0 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.

Оцінку рівня неврологічних симптомів (NSS) проводили протягом 21 дня і ступінь відновлення (визначений як ΔNSS=NSS(1 год.) - NSS(t)) розраховували й узагальнювали на

Фіг. 2. Слід зазначити, що найбільш ефективна доза HU-910 становила 10 мг/кг. На 5 і 7 день після травми у мишей, які отримували лікування, спостерігали значно більше відновлення в порівнянні з контрольними групами (яким вводили носій) або групами, яким вводили меншу дозу (HU-910 у концентрації 0,1 і 1 мг/кг).

5 In vivo експеримент 2:

У цьому дослідженні чотирьом групам мишей наносили CHI (n=9/групу), після чого вводили наступні агенти:

- Група 1 (Контроль): тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), через 1 год. після CHI.

10 - Група 2: HU-910, 10 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.

- Група 3: Специфічний антагоніст CB2 SR144528 (N-[(1S)-ендо-1,3,3-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл]-5-(4-хлор-3-метилфеніл)-1-(4-метилбензил)піразол-3-карбоксамід), (див. М. Ріналді-Кармона зі співавторами (M.Rinaldi-Carmona, et al.) J. Pharmacol. Exp. Ther. 284 (1998) 644-650), 1 мг/кг, і.р. через 1 год. після CHI.

15 - Група 4: Специфічний антагоніст CB2 (SR144528, (SR144528, N-[(1S)-ендо-1,3,3-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл]-5-(4-хлор-3-метилфеніл)-1-(4-метилбензил)піразол-3-карбоксамід), 1 мг/кг, і.р. через 1 год. після CHI і HU-910 10 мг/кг, яку вводили через 10 хвилин після введення антагоніста.

20 Слід зазначити, що групам 3 і 4 проводили введення для підтвердження того, що HU-910 дійсно діє на рецептор CB2.

На Фіг. 3 представлений ступінь відновлення для чотирьох груп (виміряний як $\Delta\text{NSS}=\text{NSS}(1 \text{ год.}) - \text{NSS}(t)$ у період від 24 годин до 14 днів після CHI), із представлених даних очевидно, що в присутності тільки антагоніста (Група 3) відновлення було значно зниженим у порівнянні з контрольною групою (Група 1), якій вводили тільки носій. Більше того, сприятлива дія HU-910 знижувалася аналогічно в присутності антагоніста (Група 4). Згідно з цими даними припускають, що HU-910 має дію на рецептор CB2. Таким чином, припускається, що ендogenous ліганди, 2-AG і анандамід, які чинять нейрозахисну дію шляхом стимуляції рецепторів CB2, забезпечують захист у період після CHI, таким чином, що якщо рецептор CB2 блокується (наприклад, антагоністом), то їх дія також припиняється, що призводить до вповільненого відновлення.

30 In vivo експеримент 3:

У цьому дослідженні чотирьом групам мишей наносили CHI (n=7-8/групу), після чого вводили наступні агенти:

35 - Група 1 (Контроль): Тільки носій (диметилсульфоксид (ДМСО): Tween 80: Сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), і.р. через 1 годину після CHI.

- Група 2: HU-910, 10 мг/кг, розчинена в Носії, і.р. через 1 годину після CHI.

40 - Група 3: Специфічний антагоніст/зворотній агоніст CB2 (6-йод-2-метил-1-[2-(4-морфолініл)етил]-1H-індол-3-іл]-(4-метоксифеніл)метанон) (Росс зі співавторами (Ross et al.), 1999)), розчинений у Носії, 1 мг/кг, і.р. через 1 год. після CHI і HU-910, розчинену в Носії, 10 мг/кг, яку вводили через 10 хвилин після введення антагоніста/зворотнього агоніста.

- Група 4: Специфічний антагоніст/зворотній агоніст CB2 AM630 (6-йод-2-метил-1-[2-(4-морфолініл)етил]-1H-індол-3-іл]-(4-метоксифеніл)метанон), розчинений у Носії, 1 мг/кг, і.р. через 1 год. після CHI.

45 Слід зазначити, що групам 3 і 4 проводили введення для підтвердження того, що HU-910 дійсно діє на рецептор CB2.

На Фіг. 4 представлено відновлення чотирьох груп, виміряне як ΔNSS у період від 1 години до 28 днів після CHI, із представлених даних очевидно, що сприятлива дія HU-910 (Група 2) знижувалася аналогічно в присутності антагоніста/зворотнього агоніста (Група 3). Згідно з цими даними припускають, що HU-910 має дію на рецептор CB2.

50 Дія HU-914 на закриті ушкодження голови in vivo

In vivo експеримент 4:

У цьому дослідженні чотирьом групам мишей наносили CHI (n=10/групу), після чого вводили наступні агенти:

55 - Група 1 (Контроль): Тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), через 1 год. після CHI.

- Група 2: HU-914, 5 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.

- Група 3: HU-914, 10 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після CHI.

- Група 4: HU-914, 20 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

Оцінку рівня неврологічних симптомів (Δ NSS) проводили протягом 21 дня, дані представлені на Фіг. 5. Найбільш ефективна доза HU-914 становила 5 мг/кг. Починаючи з 3 дня після нанесення травми, у мишей, яким вводили 5 мг/кг HU-914, спостерігали значно більше відновлення в порівнянні з контрольними групами (яким вводили носій) або групами, яким вводили більші дози (HU-914 10 мг/кг і 20 мг/кг).

In vivo експеримент 5:

У цьому дослідженні чотирьом групам мишей наносили СНІ (n=10/групу), після чого вводили наступні агенти:

- Група 1 (Контроль): тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), через 1 год. після СНІ.

- Група 2: HU-914, 5 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

- Група 3: Специфічний антагоніст/зворотній агоніст CB2 (SR144528, N-[(1S)-ендо-1,3,3-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл]-5-(4-хлор-3-метилфеніл)-1-(4-метилбензил)піразол-3-карбоксамід), 1 мг/кг, і.р. через 1 год. після СНІ і HU-914 5 мг/кг, яку вводили через 10 хвилин після введення антагоніста/зворотнього агоніста.

На Фіг. 6 представлений ступінь відновлення чотирьох груп (виміряний як Δ NSS=NSS(1 год.) - NSS(t) у період від 24 годин до 28 днів після СНІ), із представлених даних очевидно, що в присутності антагоніста/зворотнього агоніста (Група 3) відновлення, здійснюване HU-914 (Група 2), припинялося й знижувалося до рівня контрольної групи (Група 1), якій вводили тільки носій. Згідно з цими даними припускають, що щонайменше частково, HU-914 діє на рецептор CB2.

In vivo експеримент 6:

У цьому дослідженні чотирьом групам самців мишей C57Bl наносили СНІ (n=7-10/групу), після чого вводили наступні агенти:

- Група 1 (Контроль): Тільки носій (етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), і.р. через 1 год. після СНІ.

- Група 2: HU-914, 2,5 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

- Група 3: HU-914, 5 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

- Група 4: HU-914, 10 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

Оцінку рівня неврологічних симптомів (NSS) проводили протягом 14 днів, дані представлені на Фіг. 7. Слід зазначити, що найбільш ефективні дози HU-914 для конкретної лінії мишей становили 2,5 мг/кг і 5 мг/кг. Через 14 днів після травми у мишей, яким вводили HU-914 (2,5 мг/кг і 5 мг/кг), спостерігали значно більше відновлення в порівнянні з контрольними групами (яким вводили носій) або групами, яким вводили більші дози (10 мг/кг HU-914). Аналогічно до дослідження мишей Sabra, у цьому дослідженні показана дозозалежна дія HU-914 у мишей C57Bl, яка при більш низьких дозах (2,5 і 5 мг/кг HU-914) є більш ефективною в порівнянні з більш високою дозою (10 мг/кг HU-914) або носієм.

Дія HU-914 на продукування ФНП- α після СНІ

Активність ФНП- α може бути індукована в результаті ішемічного або травматичного ушкодження мозку, починаючи з 1-2 год. і досягаючи піка через 4 години після СНІ (Шогами зі співавторами (Shohami et al.), 1997). На наступній стадії досліджували дію HU-914 на продукування ФНП- α після СНІ.

Трьом групам мишей (n=5-6) наносили СНІ:

- Група 1 (Контроль): Мнимі контрольні групи піддавали тільки анестезії й проводили розріз шкіри.

- Група 2: тільки носій етанол:кремофор:сольовий розчин у співвідношенні 1:1:18), і.р. через 1 год. після СНІ.

- Група 3: HU-914, 5 мг/кг, розчинена в носії (1:1:18 етанол:кремофор:сольовий розчин), і.р. через 1 год. після СНІ.

Тварин умертвляли через 4 години після СНІ шляхом декапітації. Мозок швидко видаляли й розділяли на іпсилатеральні й контралатеральні фрагменти кори й гіпокампу, які заморожували в рідкому азоті й зберігали при -78 °C. Тканини мозку гомогенізували в льодяному лізисному буфері (суміш 50 мМ Tris-HCl, 1 мМ ЕДТА, 1 мМ ЕГТА, 0,5 мМ Na₃VO₄, 0,1 % 2-меркаптоетанолу, 1 % Triton X-100, 50 мМ NaF, 5 мМ пірофосфату натрію, 10 мМ β -гліцеропірофосфаті натрію, 0,1 мМ фенолметансульфонілхлориду й інгібітора протеази) (Roche

Diagnostics, Indianapolis, IN). Після обробки ультразвуком у льоді протягом 45 секунд і центрифугування при 12000 об./хв протягом 20 хвилин визначали концентрацію білка в надосадовій рідині за допомогою способу Бредфорда (Bio-Rad Laboratories, Munich, Germany). Надосадові рідини аналізували шляхом твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) на продукування ФНП- α з застосуванням цитокін-специфічного набору, виробництва R&D Systems (Minneapolis, MN). HU-914 інгібувало продукування ФНП- α у гіпокампі ушкодженої лівої півкулі, але не впливало на рівень цитокіну в лівій ділянці кори. Підвищення рівня ФНП- α у правій ділянці кори або гіпокампі не детектували (Фіг. 8).

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука, вибрана з наступного списку:

- метил-2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- метил-2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- 2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен;
- (2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- (2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 2-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-он;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-1,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-ол;
- (3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- метил-3-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбоксилат;
- (3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол;
- 3-(2,6-диметокси-4-пентилфеніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 5-(2-метилоктан-2-іл)-2-(4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 2-(4-(гідроксиметил)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-2-іл)-5-(2-метилоктан-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 3-(2,6-дигідрокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-карбонова кислота;
- 2-(4-(гідроксиметил)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл)-5-(2-метилоктан-2-іл)бензол-1,3-діол;
- 5-(2-метилоктан-2-іл)-2-(4,7,7-триметилбіцикло[2.2.1]гептан-2-іл)бензол-1,3-діол; і
- 3-(2,6-дигідрокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гептан-1-карбонова кислота.

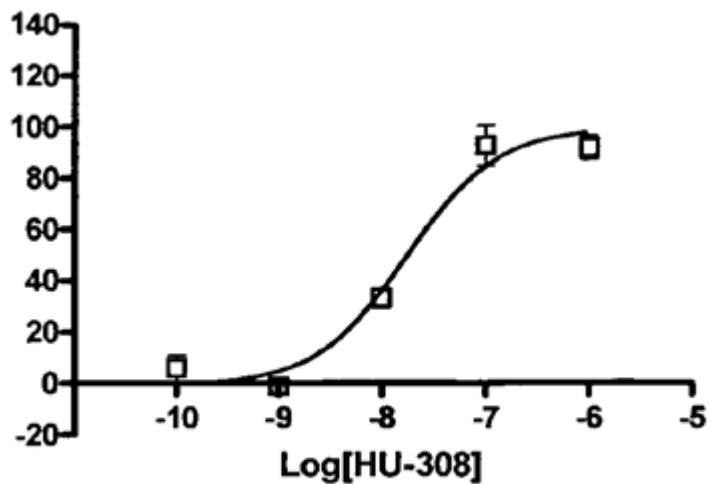
2. Сполука за п. 1, яка являє собою (1S,4R)-(2-(2,6-диметокси-4-(2-метилоктан-2-іл)феніл)-7,7-диметилбіцикло[2.2.1]гепт-2-ен-1-іл)метанол.

3. Сполука за п. 1 для застосування як лікарського засобу.

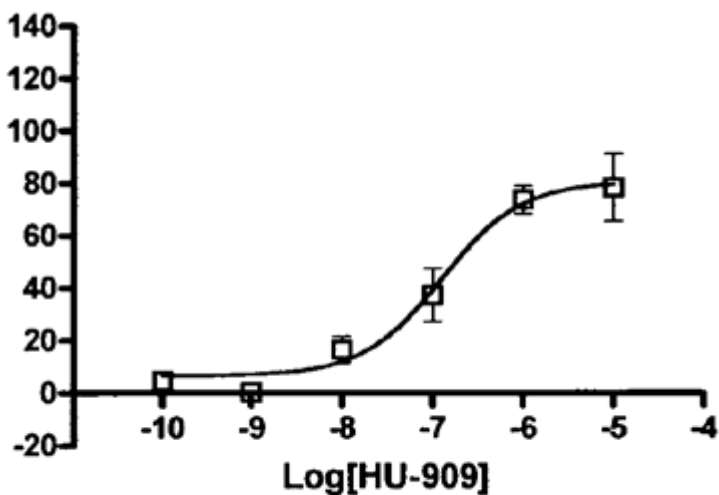
4. Сполука за п. 1 для застосування для лікування захворювання, розладу або стану, вибраного з запалення, болю, алергії, неврологічних або нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкодження головного мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу, розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту та нудоти або будь-якої їхньої комбінації.

5. Фармацевтична композиція, що містить терапевтично ефективну кількість сполуки за п. 1 для застосування для лікування стану, вибраного з запалення, болю, алергії, неврологічних або нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкодження головного мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу, розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту та нудоти або будь-якої їхньої комбінації.

6. Застосування сполуки за п. 1 для отримання фармацевтичної композиції для лікування стану, вибраного із запалення, болю, алергії, неврологічних або нейродегенеративних захворювань, захворювань печінки, ушкодження головного мозку, раку, васкуляризації сітківки, ендометриту, розладів апетиту, метаболічного синдрому, діабету, атеросклерозу, розладів, пов'язаних із антифібриногенною дією, запальної хвороби кишечника, артриту та нудоти або будь-якої їхньої комбінації.
- 5



Фіг. 1А



Фіг. 1В

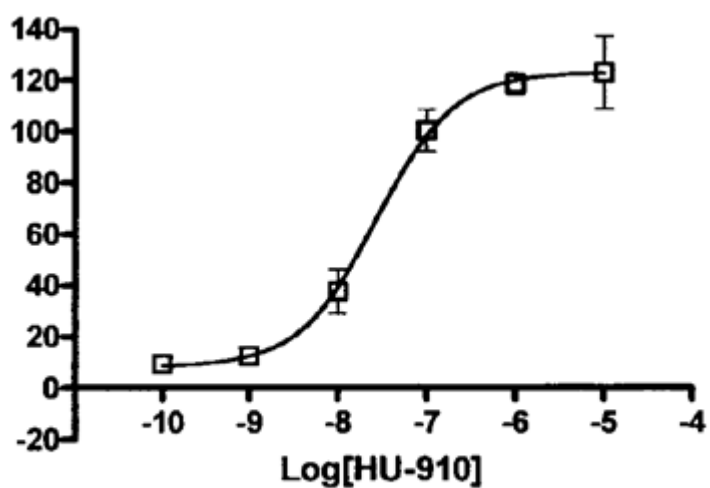


Fig. 1C

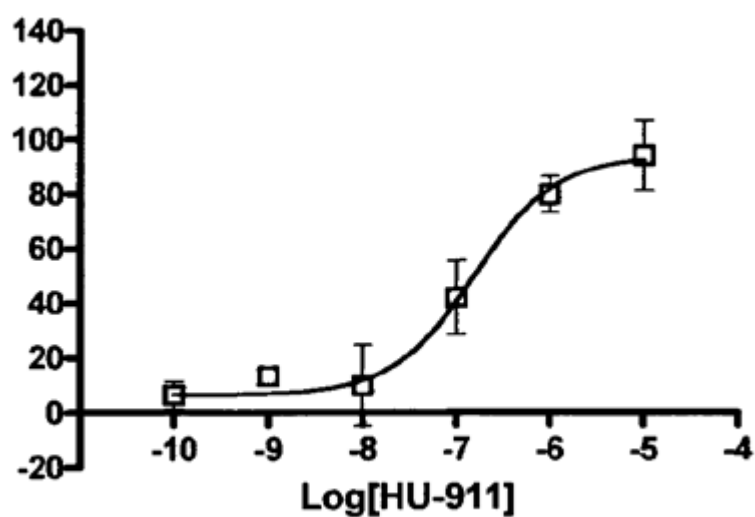


Fig. 1D

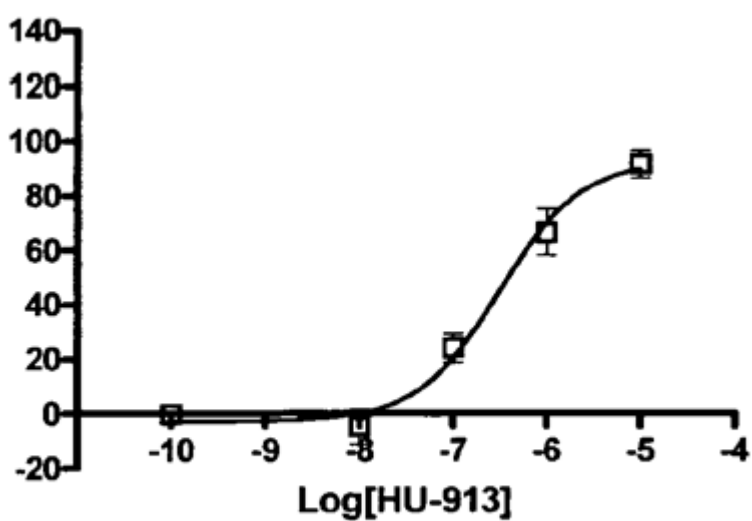
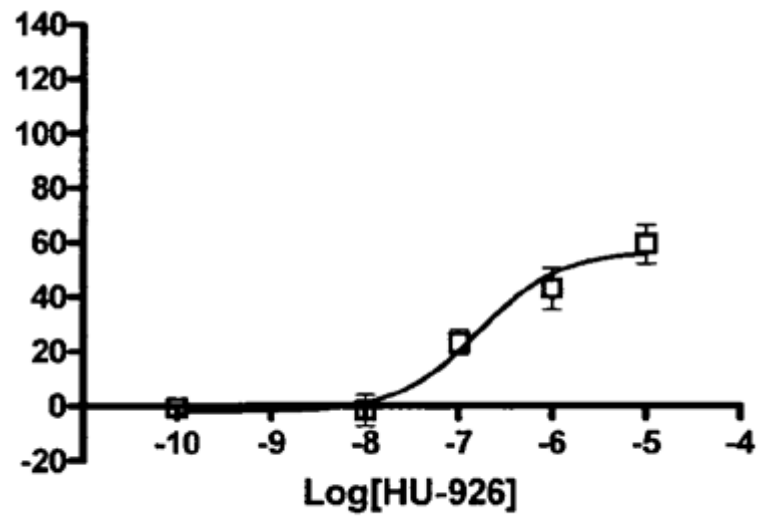
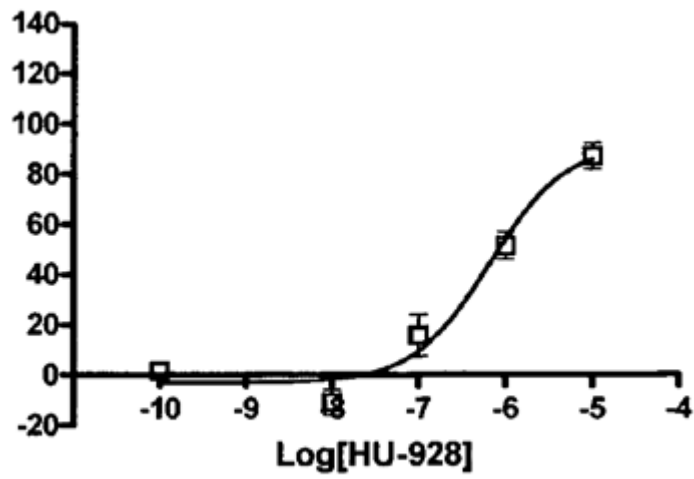


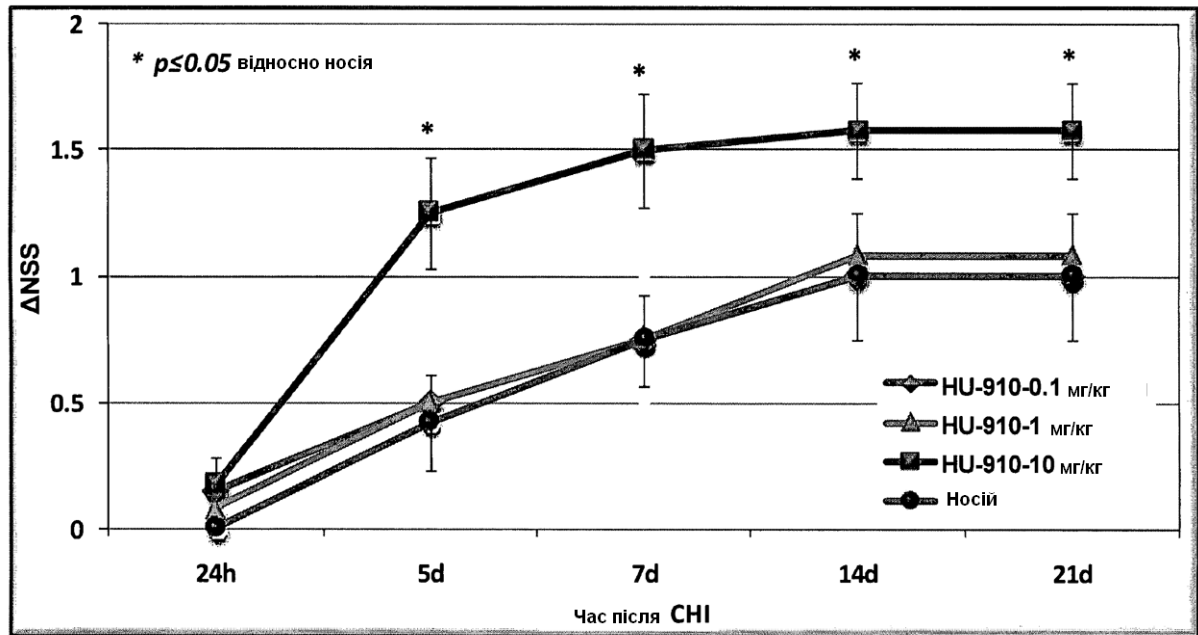
Fig. 1E



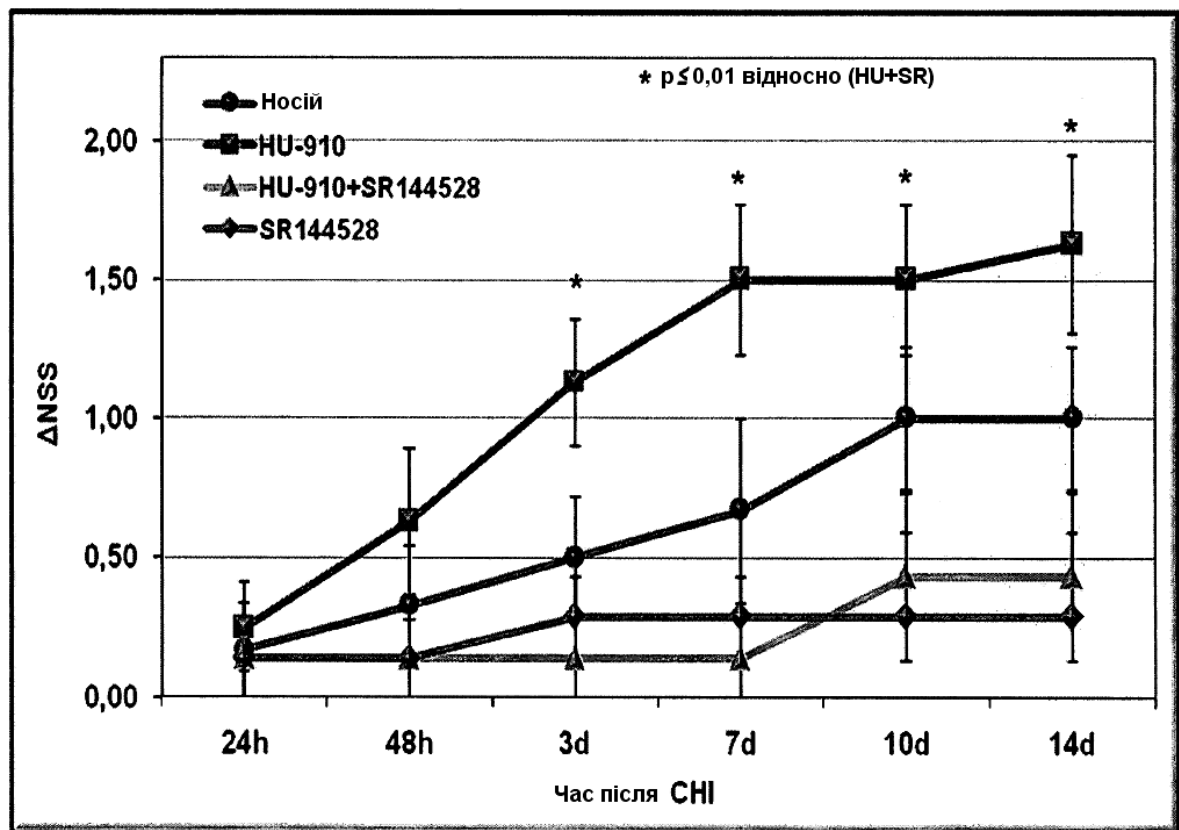
Φir. 1F



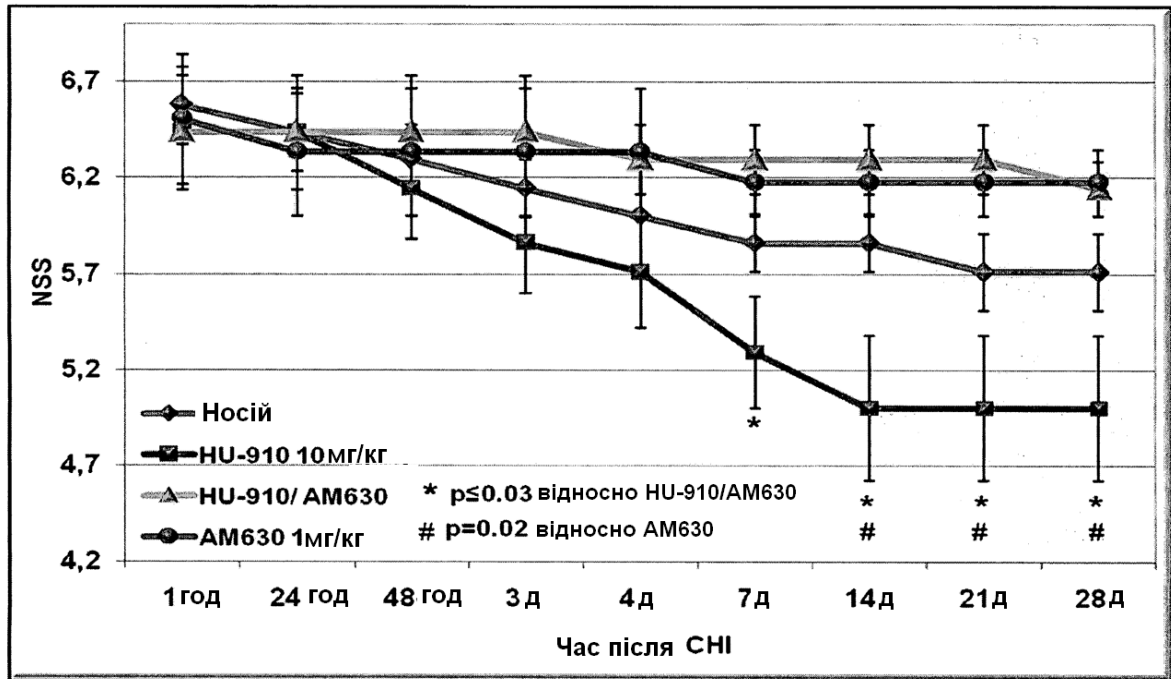
Φir. 1G



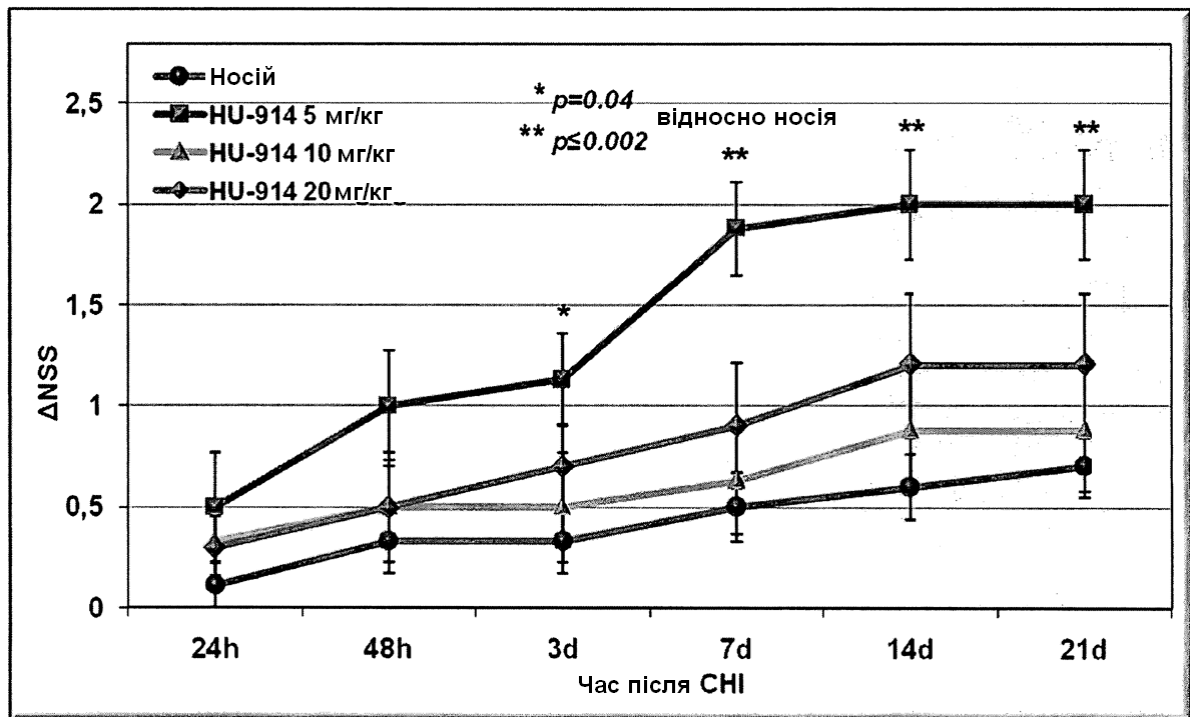
Фіг. 2



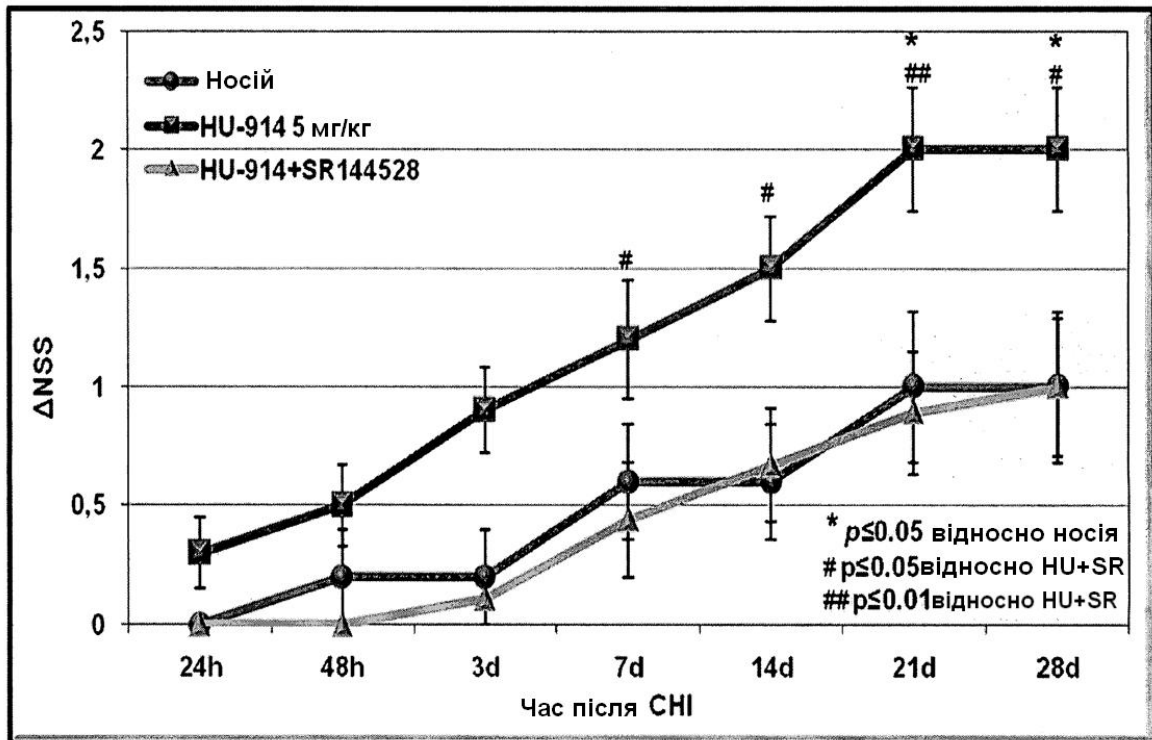
Фіг. 3



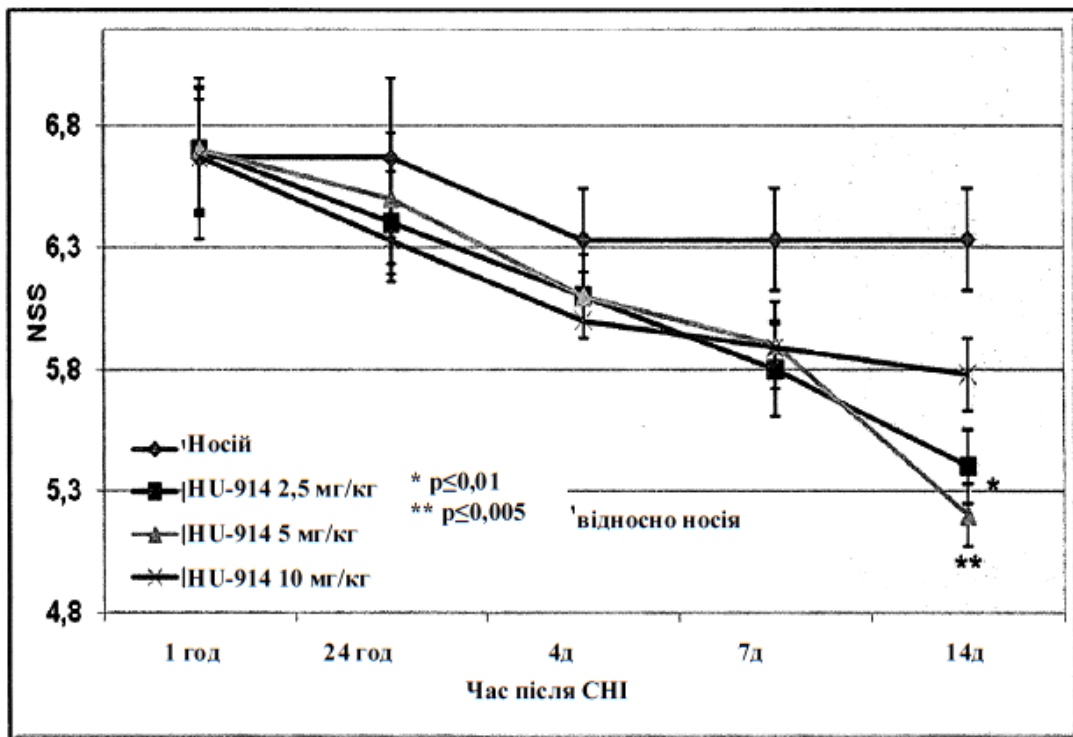
Фіг. 4



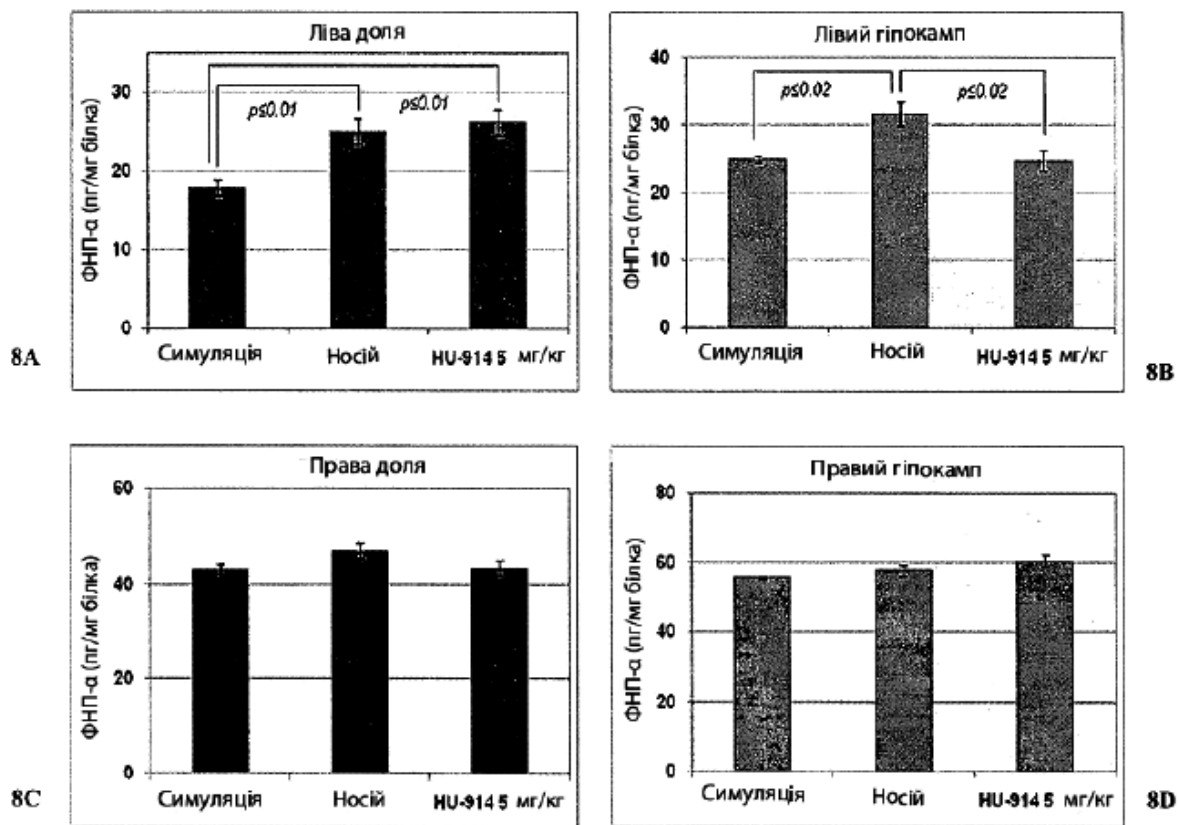
Фіг. 5



Фіг. 6



Фіг. 7



Фіг. 8