



УКРАЇНА

(19) UA (11) 77536 (13) C2
(51) МПК

A61K 31/451 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 13/02 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07D 211/26 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ВТОРИННІ АМІНОАНІЛІНОВІ ПІПЕРИДИНИ ЯК АНТАГОНІСТИ МСН1 ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

1

2

(21) 20041210489

(22) 03.07.2003

(24) 15.12.2006

(86) PCT/US2003/021391, 03.07.2003

(31) 10/189,145

(32) 03.07.2002

(33) US

(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

(72) Марзабаді Мохамед, US, Джианг Ю, US, Лу Кай, US, Чен Чіен-Ан, US, Делеон Джон, US, Ветцель Джон, US

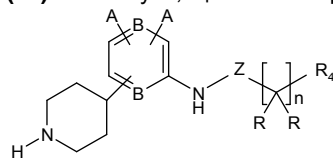
(73) Х. ЛУННБЕК А/С, DK

(56) WO 2004/005257 A1

Borowsky, et al., Nature Medicine, 2003

Takekawa, S., et al., " T-226296: a novel, orally active and selective melanin-concentrating hormone receptor antagonist " Eur J Pharmacol 438 (3) :129-35 (2002)

(57) 1. Сполуки, що мають структуру:

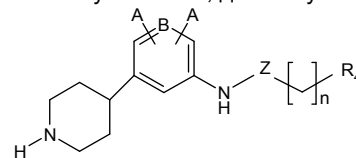
де кожний А являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, -OR₃ або C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний В являє собою незалежно N або CH;

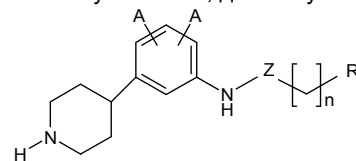
де Z являє собою CO або SO₂;де кожний R являє собою незалежно -H, -F або C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃, -SR₃, -COR₃, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арилабо гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₂ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;де кожний R₃ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN;

та де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно; або їх фармацевтично прийнятні солі.

2. Сполука за п. 1, де сполука має структуру:

де А, В, Z, n та R₄ є такими, як визначено у п. 1.

3. Сполука за п. 2, де сполука має структуру:



де А та Z є такими, як визначено у п. 1;

де R₄ являє собою арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним

(13) C2

(11) 77536

(19) UA

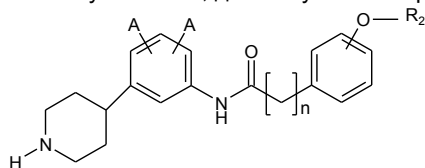
або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₃ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R₃ являє собою C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN або -OR₂;

де кожний R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN; та

де n є таким, як визначено у п. 1.

4. Сполука за п. 3, де сполука має структуру:

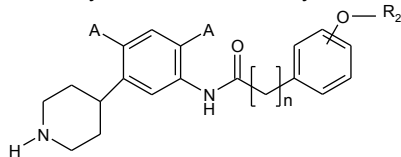


де A є таким, як визначено у п. 1;

де R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂ або -CN; та

де n є таким, як визначено у п. 1.

5. Сполука за п. 4, де сполука має структуру:

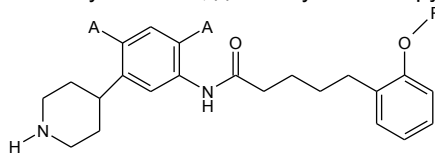


де A є таким, як визначено у п. 1;

де R₂ являє собою C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, та

де n являє собою ціле число від 3 до 6 включно.

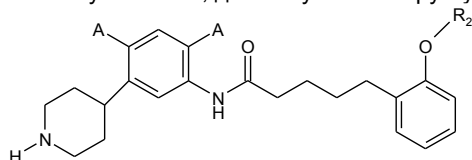
6. Сполука за п. 5, де сполука має структуру:



де кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I, та

R₂ є таким, як визначено у п. 5.

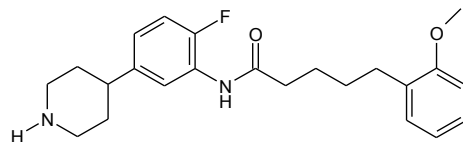
7. Сполука за п. 6, де сполука має структуру:



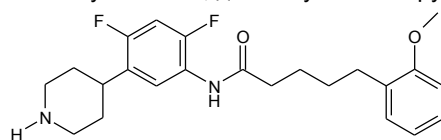
де кожний A являє собою незалежно -H, -F або -Cl, та

де R₂ являє собою C₁-C₃ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом.

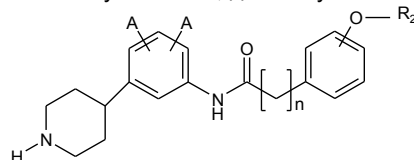
8. Сполука за п. 7, де сполука має структуру:



9. Сполука за п. 7, де сполука має структуру:



10. Сполука за п. 2, де сполука має структуру:

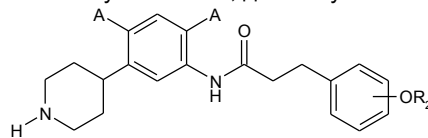


де A є таким, як визначено у п. 1, та

де R₂ являє собою арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂ або -CN, та

де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.

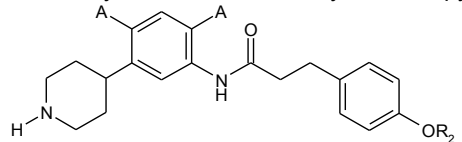
11. Сполука за п. 10, де сполука має структуру:



де кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I, та

де R₂ є таким, як визначено у п. 10.

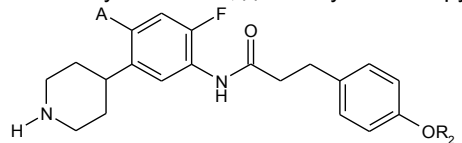
12. Сполука за п. 11, де сполука має структуру:



де кожний A являє собою незалежно -H, -F або -Cl, та

де R₂ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -H, -F, -Cl або -Br.

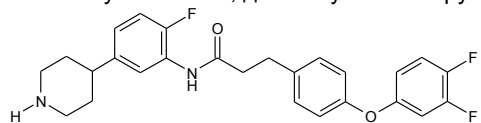
13. Сполука за п. 12, де сполука має структуру:



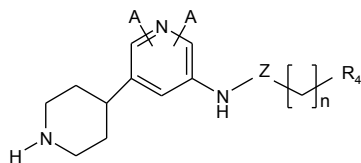
де кожний A являє собою незалежно -H, -F або -Cl, та

де R₂ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F.

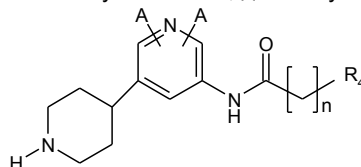
14. Сполука за п. 13, де сполука має структуру:



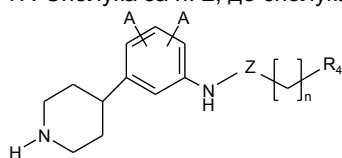
15. Сполука за п. 2, де сполука має структуру:



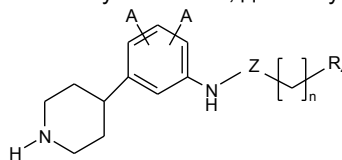
де A, Z, n та R₄ є такими, як визначено у п. 1.
16. Сполука за п. 15, де сполука має структуру:



де A є таким, як визначено у п. 1, та
де R₄ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₃ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;
де кожний R₃ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN або -OR₂;
де кожний R₂ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом; та
де n є таким, як визначено у п. 1.
17. Сполука за п. 2, де сполука має структуру:

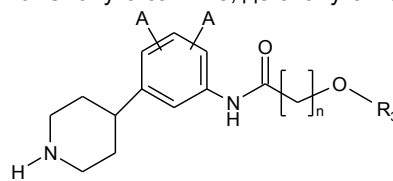


де A є таким, як визначено у п. 1;
де Z є таким, як визначено у п. 1;
де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃, -COR₃ або -SR₃;
де кожний R₃ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;
де R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN; та
де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.
18. Сполука за п. 17, де сполука має структуру:

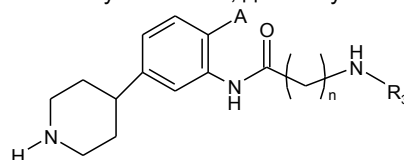


де Z є таким, як визначено у п. 1;
де кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I;
де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃ або -COR₃;
де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;
де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або

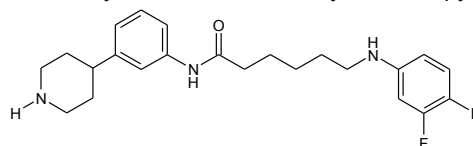
арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN; та
де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.
19. Сполука за п. 18, де сполука має структуру:



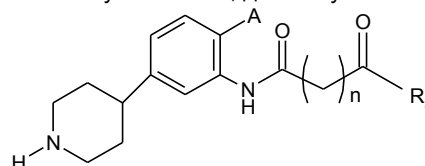
де кожний A являє собою незалежно -H або -F;
де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;
де R₂ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br або -I, та
де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.
20. Сполука за п. 17, де сполука має структуру:



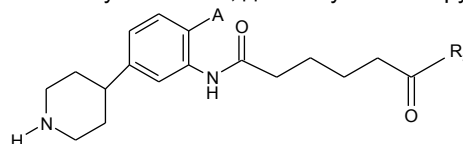
де A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I;
де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений -NHR₂; та
де R₂ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I.
21. Сполука за п. 20, де сполука має структуру:



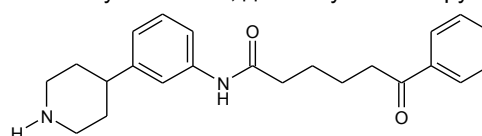
22. Сполука за п. 18, де сполука має структуру:



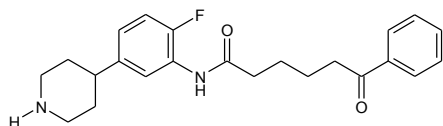
23. Сполука за п. 18, де сполука має структуру:



де A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I;
де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br або -I.
24. Сполука за п. 23, де сполука має структуру:



25. Сполука за п. 23, де сполука має структуру:



26. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за п. 1 та фармацевтично прийнятний носій.
27. Фармацевтична композиція, виготовлена шляхом змішування сполуки за п. 1 та фармацевтично прийнятного носія.
28. Спосіб виготовлення фармацевтичної композиції, який включає змішування сполуки за п. 1 з фармацевтично прийнятним носієм.
29. Спосіб лікування суб'єкта, що страждає на розлад, опосередкований рецептором MCH1, який включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості сполуки за п. 1.
30. Спосіб за п. 29, де терапевтично ефективна кількість становить кількість від приблизно 0,03 до приблизно 300 мг.
31. Спосіб за п. 29, де розлад являє собою депресію.

32. Спосіб за п. 29, де розлад являє собою тривожний стан.
33. Спосіб за п. 29, де розлад являє собою ожиріння.
34. Спосіб за п. 29, де розлад являє собою нетримання сечі.
35. Спосіб лікування суб'єкта, що страждає на депресію, тривожний стан, нетримання сечі або ожиріння, який включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості сполуки за п. 1.
36. Спосіб за п. 35, де терапевтично ефективна кількість становить від приблизно 0,03 до приблизно 300 мг.
37. Спосіб за п. 35, де суб'єкт страждає на депресію.
38. Спосіб за п. 35, де суб'єкт страждає на тривожний стан.
39. Спосіб за п. 35, де суб'єкт страждає на ожиріння.
40. Спосіб за п. 35, де суб'єкт страждає на нетримання сечі.

Ця заявка подана з проханням про встановлення пріоритету за заявкою США №10/189,145, поданої 3 липня 2002р., зміст якої включено в цю заявку шляхом посилання.

У даній заявці приведені шляхом посилання різні публікації, у дужках зазначені автор і рік. Повну бібліографію стосовно цих посилань можна знайти наприкінці опису винаходу безпосередньо перед формулою винаходу.

Опис цих публікацій у їхньому повному обсязі включено в цю заявку для більш докладного опису стану сучасного рівня галузі, до якого відноситься даний винахід.

Меланін-концентрувальний гормон (MCH) є циклічним пептидом, що спочатку був виділений зі слизової лосося (гольця) [Kawauchi et al., 1983]. Пептид, що складається з 17 амінокислот, викликав у риби агрегацію меланіну в меланофорах та інгібував вивільнення АКТГ, діючи як функціональний антагоніст α -МСГ. У пацюків, мишей і людини MCH ссавців (19 амінокислот) високо консервативний, має 100% амінокислотну ідентичність, але його фізіологічна роль чітко не визначена. Повідомлялося, що MCH бере участь у різних процесах, включаючи харчування, водний баланс, енергетичний метаболізм, стан загального порушення ЦНС і уваги, пам'ять і когнітивні функції і психічні розлади [як огляд дивіться Baker, 1991, Baker, 1994, Nahon, 1994, Knigge et al., 1996]. Його роль у харчуванні або регуляції маси тіла була підтверджена в останній публікації в журналі Nature [Qu et al., 1996], у якій було показано, що MCH дуже сильно експресується в гіпоталамусі мишей ob/ob у порівнянні з мишами ob/+ та що голодування сприяло підвищенню мРНК MCH як у нормальних мишей, так і в мишей, що страждають на ожиріння, під час голодування. При введенні в бокові шлуночки MCH також стимулює прийом їжі у нормальних пацюків [Rossi et al., 1997].

Також повідомлялося, що MCH викликає фун-

кціональний антагонізм поведінкових ефектів α -МСГ [Miller et al., 1993, Gonzalez et al., 1996, Sanchez et al., 1997]; крім того, було показано, що стрес збільшує рівні мРНК ПОМК поряд зі зменшенням рівнів мРНК препоМCH попередника MCH (ppMCH) [Presse et al., 1992]. Таким чином, MCH може служити інтегративним нейропептидом, залученим до стресових реакцій, а також до регуляції харчування і сексуальної активності [Baker, 1991, Knigge et al., 1996].

Вважають, що біологічні ефекти MCH викликаються за допомогою специфічних рецепторів. Повідомлялося, що ліганд, мічений тритієм (^3H -MCH), має специфічне зв'язування у відношенні мембран мозку, але був невідповідним для аналізу насичування, тому ні афінність, ні V_{max} не були визначені [Drozdz and Eberle, 1995]. Введення радіоактивного йоду в 13 положенні тирозину приводить до істотного зниження біологічної активності ліганду [дивіться Drozdz and Eberle, 1995]. Навпроти, введення радіоактивного йоду в аналог MCH [Phe^{13} , Tyr^{19}]-MCH дало позитивний результат [Drozdz et al., 1995]; ліганд залишився біологічно активним і мав специфічне зв'язування з різноманітними клітинними лініями, включаючи меланому миші (B16-F1, G4F і G4F-7), клітини PC12 і COS.

Для клітин G4F-7, $K_D=0,118\text{нМ}$ і $V_{\text{max}}\sim 1100\text{сайтів/клітину}$. Важливо, що зв'язування не інгібувалось α -МСГ, але слабо інгібувалось ANF пацюка ($K_i=116\text{нМ}$ у порівнянні з 12нМ природного MCH) [Drozdz et al., 1995]. Недавно було описано специфічне зв'язування MCH у трансформованих кератиноцитах [Burgaud et al., 1997] і в клітинах меланоми [Drozdz et al., 1998], у результаті дослідження фотозшиванням було зроблено припущення про те, що рецептором є мембранний білок із середньою молекулярною масою 45-50кД, який можна порівняти з діапазоном молекулярної маси суперродини рецепторів GPCR. Дотепер не проводилися радіоавтографічні дослідження лока-

лізації рецептора MCH за допомогою цього ліганду.

Локалізація і біологічна активність пептиду MCH наводить на думку, що модуляція активності рецептора MCH може бути ефективною для багатьох терапевтичних використаннях. Для можливого клінічного використання самою описаною є роль MCH у харчуванні. MCH експресується в бічній частині гіпоталамуса, ділянці мозку, залученій до регуляції спраги і голоду [Grillon et al., 1997]; останнім часом було показано, що орексини A і B, що є сильними орексигенними агентами, дуже схожі за розташуванням з MCH у бічній частині гіпоталамуса [Sakurai et al., 1998]. Рівні мРНК MCH у цій ділянці мозку збільшуються в пацюків після 24 годин відсутності харчування [Herve i Fellman, 1997]; після ін'єкції інсуліну спостерігали значне збільшення відносної кількості й інтенсивності фарбування імунореактивного MCH перикаріону і волокон поряд зі значним збільшенням рівня мРНК MCH [Bahjaoui-Bouhaddi et al., 1994].

Зі здатністю MCH стимулювати потребу в їжі у пацюків [Rossi et al., 1997] узгоджується спостереження, що рівні мРНК MCH у гіпоталамусі миші ob/ob, що страждає на ожиріння, регулювалися на підвищення [Qu et al., 1996] і знижувалися в гіпоталамусі пацюків, які одержували лептин, позитивний вплив якого на прийом їжі й масу тіла також був описаний [Sahu, 1998]. MCH можливо діє як функціональний антагоніст меланокортинової системи у випадку його впливу на прийом їжі та на гормональну секрецію НРА (гіпоталамо-гіпофізано-адреналова система) [Ludwig et al., 1998]. Усі ці дані наводять на думку щодо ролі ендогенного MCH у регуляції енергетичного балансу та відповіді на стрес і дають підставу для розвитку специфічних сполук, які діють на рецептори MCH, для використання при лікуванні ожиріння і пов'язаних зі стресами розладів.

В усіх видах досліджень, проведених дотепер, головна частина нейронів групи клітин MCH має в значній мірі постійну локалізацію в ділянках бічної частини гіпоталамуса і субталамуса, де вони розташовуються, і може бути частиною деяких, так званих "екстрапірамідних" рухових ділянок. До них відносяться основні стріато- і палідофугальні шляхи, що включають таламус і кору головного мозку, гіпоталамічні ділянки і реципрокні зв'язки із субталамічним ядром, чорною субстанцією і центрами середнього мозку [Bittencourt et al., 1992]. За своєю локалізацією групи клітин MCH ймовірно можуть бути мостом або механізмом для встановлення зв'язку гіпоталамічної вісцеральної активності з відповідною і погодженою руховою активністю. Клінічно це може мати деяке значення при розгляді можливості залучення цієї системи MCH у рухові розлади, такі як хвороба Паркінсона і хорея Гентінгтона, у які, як відомо, залучені екстрапірамідні ділянки.

Дослідження зв'язування генів у людини показали, що автентичний локус MCH, розташований на 12 хромосомі (12q23-24), і варіантний локус MCH, розташований на 5 хромосомі (5q12-13) [Pedeutour et al., 1994]. Локус 12q23-24 збігається з локусом, щодо якого на генетичній карті показана аутосомно-домінантна церебелярна атаксія II типу

(SCA2) [Auburger et al., 1992, Twells et al., 1992]. Це захворювання полягає в нейродегенеративних розладах, включаючи олівопонтocereбелярну атрофію.

Більш того, ген хвороби Дар'є на генетичній карті розташований у локусі 12q23-24 [Craddock et al., 1993]. Хвороба Дар'є характеризується патологічною адгезією кератиноцитів I і, у деяких родинах, психічними захворюваннями. Маючи на увазі функціональні та нейроанатомічні особливості MCH нервової системи головного мозку пацюка і людини, ген MCH може бути прекрасним рішенням у випадку захворювань SCA2 або Дар'є. Цікаво, що в даному локусі на генетичній карті розташовані захворювання високого соціального значення. Дійсно, використовуючи дослідження зв'язування генів, ген, відповідальний за хронічну або гостру форми спінальних м'язових атрофій, був співвіднесений із хромосомою 5q12-13 [Melki et al., 1990, Westbrook et al., 1992]. Крім того, незалежний ряд свідчень підтвердив перебування головного локусу шизофренії на хромосомі 5q1 1,2-13,3 [Sherrington et al., 1988, Bassett et al., 1988, Gilliam et al., 1989]. На підставі вищевказаних досліджень було припущено, що MCH може відігравати роль у нейродегенеративних захворюваннях і емоційних розладах.

Припускають, що додатковим терапевтичним застосуванням сполук, пов'язаних з MCH, є ефекти MCH, що спостерігаються в інших біологічних системах. Наприклад, MCH може регулювати репродуктивні функції у самців і самок пацюків. Транскрипти MCH і пептиди MCH були виявлені в ембріональних клітинах яєчок дорослих пацюків, що дало припущення про те, що MCH може брати участь у відновленні стовбурних клітин і/або диференціації ранніх сперматоцитів [Hervieu et al., 1996]. Ін'єкція MCH безпосередньо в серединну предзорову ділянку (MPOA) або вентромедіальне ядро (VMN) стимулювало сексуальну активність самок пацюків [Gonzalez et al., 1996]. У пацюків з вилученими яєчниками, яким вводили естрадіол, MCH стимулювали вивільнення лютеїнізуючого гормону (LH), тоді як анти-MCH антисироватка інгібувала вивільнення LH [Gonzalez et al., 1997]. Зона інцрта, що містить велику популяцію тіл клітин MCH, спочатку була ідентифікована як регуляторний сайт передовуляційного збільшення LH [MacKenzie et al., 1984].

Повідомлялося, що MCH впливає на вивільнення гітуітарних гормонів, включаючи АСТН і окситоцин. Аналоги MCH також можуть використовуватися при лікуванні епілепсії. На моделі епілептичних випадків, викликаних PTZ, ін'єкція MCH до початку припадку запобігала активності судорожного припадку, як у пацюків, так і у морських свинок, що означало, що нейрони, що містять MCH, можуть брати участь у нейрональному ланцюзі, що лежить в основі припадку, викликаного PTZ [Knigge and Wagner, 1997]. Також були зроблені спостереження про те, що MCH впливає на поведінкові зв'язки когнітивних функцій. Введення MCH прискорює вгасання реакції пасивного уникнення в пацюків [McBride et al., 1994], що збільшує можливість того, що антагоністи рецептора MCH можуть мати корисний вплив на механізми збереження в

пам'яті та/або утримування в пам'яті. Можлива роль MCH у модуляції або сприйнятті болю підтримується щільною іннервацією періакведуктальної сірої речовини (PAG) MCH-позитивними волокнами. Нарешті, MCH може брати участь у регуляції споживання рідини. ICV інфузія MCH бадьорій вівці давала діуретичні, натрійуретичні і калійуретичні зміни у відповідь на збільшення об'єму плазми [Parkes, 1996]. Разом з анатомічними даними про присутність MCH в ділянках мозку, що регулюють гомеостаз рідини, результати показали, що MCH може бути важливим пептидом, залученим у центральний контроль гомеостазу рідини у ссавців.

Недавно була опублікована інформація про ідентифікацію рецептора MCH, пов'язаного з G-білком [Chambers et al., 1999, Saito et al., 1999]. Ці групи ідентифікували MCH як ендogenous ліганд у відношенні людського рецептора-сироти SLC-1, пов'язаного з G-білком [Lakaye et al., 1998]. Повідомлялося, що гомологічний йому рецептор у пацюка (який зараз називають "MCH-1") локалізований в ділянках головного мозку пацюка, пов'язаних з харчовою поведінкою (наприклад, дорсомедіальний і вентромедіальний гіпоталамус). Зв'язок між MCH-1 і впливом MCH на харчову поведінку був підсилений останніми даними, отриманими на мишах з подавленням MCH-1. Двома групами незалежно було показано [Marsh et al., 2002, Chen et al., 2002], що задане руйнування гена рецептора MCH-1 (нокаут MCH-1) у мишей, приводило до того, що тварини страждали на гіперфагію, але були худими і мали знижену масу тіла, у порівнянні з диким типом того ж приплоду. Зниження маси тіла зв'язували з підвищенням метаболізму. У кожній групі було показано, що миші з нокаутом MCH-1 стійкі до ожиріння, викликаному режимом харчування, і що вони мають ту ж масу, що і миші того ж приплоду, які знаходяться на звичайному режимі харчування.

Нарешті, у літературі були описані синтетичні антагоністи рецептора MCH-1. [Bednarek et al. (2002)] описали синтез високоафінних пептидних антагоністів MCH-1. Більш того, низькомолекулярні антагоністи MCH-1 були описані [Takekawa et al. (Takekawa et al., 2002)]. Ця сполука, T-226296, має високу афінність у відношенні рецептора MCH-1 (~5-9нМ для MCH-1 пацюка і людини), і, як був показано, інгібує прийом їжі, викликаний інтрацеребровентрикулярним введенням MCH. Ці дані підтверджують стратегію використання антагоніста рецептора MCH-1 для лікування ожиріння.

Крім того, у власних дослідженнях заявників були випробувані антагоністи MCH1 на декількох тваринних моделях, добре відомих як моделі, що прогнозують ефективність сполук у людини [Borowsky, et al., Nature Medicine 2003]]. Ці експерименти показують, що антагоністи MCH1 ефективні для лікування ожиріння, депресії, тривожного стану, а також сечових розладів.

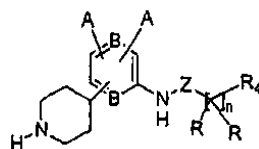
Тут ми повідомляємо про синтез вторинних аміноанілінових піперидинів, що зв'язуються з клональним рецептором меланін-концентрувального гормону-1 (MCH1) людини. Крім того, ці сполуки селективно зв'язуються з рецептором MCH-1 у порівнянні з іншим клональним рецептором, зв'язаним з G-білком.

Описується спроможність інгібувати активацію клонального рецептора, що визначено шляхом аналізів *in vitro*.

Більш того, сполуки за цим винаходом також можуть використовуватися при лікуванні патологічних станів, опосередкованих інактивацією рецепторів MCH-1, таких як розлади харчування (ожиріння, булімія і нейрогенна булімія), сексуальні/репродуктивні розлади, депресія, тривожний стан, депресія з тривожним станом, епілептичні випадки, підвищений кров'яний тиск, геморагічний інсульт, застійна серцева недостатність, порушення сну або будь-які стани, при яких може бути ефективний антагонізм до рецептора MCH1.

До того ж, сполуки за цим винаходом можуть бути ефективними для зниження маси тіла суб'єкта. Крім того, сполуки за цим винаходом можуть використовуватися при лікуванні сечових розладів.

Цим винаходом пропонуються сполуки, що мають структуру.



де кожний А являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, -OR₃ або C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний В являє собою незалежно N або CH;

де Z являє собою CO або SO₂;

де кожний R являє собою незалежно -H, -F або C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃, -SR₃, -COR₃, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₂ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R₃ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;

де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN;

та де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно;

або їх фармацевтично прийнятні солі.

У подальшому варіанті здійснення вищезазначеного винаходу сполука є енантімерно та діастерімерно чистою. В іншому варіанті здійснення сполука є енантімерно або діастерімерно чистою. В одному варіанті здійснення сполука являє собою (+)-енантімер. В одному варіанті здійснення сполука являє собою (-)-енантімер.

Ілюстрацією винаходу є фармацевтична ком-

позиція, що включає фармацевтично прийнятний носій та терапевтично ефективну кількість будь-якої сполуки винаходу.

Ілюстрацією винаходу є фармацевтична композиція, виготовлена шляхом змішування будь-якої сполуки, описаної вище, з фармацевтично прийнятним носієм.

Ілюстрацією винаходу є спосіб виготовлення фармацевтичної композиції, який включає змішування будь-якої сполуки винаходу та фармацевтично прийняттого носія.

Ілюстрацією винаходу є спосіб синтезу для одержання будь-якої сполуки винаходу.

Прикладом винаходу є спосіб лікування розладу, опосередкованого рецептором MCH1 у суб'єкта, якому це необхідно, який включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості будь-якої сполуки або фармацевтичної композиції винаходу та фармацевтично прийняттого носія.

В одному варіанті здійснення терапевтично ефективна кількість становить між приблизно 0,03 та приблизно 300мг.

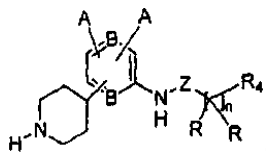
В одному варіанті здійснення розлад являє собою депресію. В одному варіанті здійснення розлад являє собою тривожний стан. В одному варіанті здійснення винаходу розлад являє собою ожиріння. В одному варіанті здійснення винаходу розлад являє собою нетримання сечі.

Один варіант здійснення винаходу являє собою спосіб лікування суб'єкта, який страждає від розладу, вибраного з депресії, тривожного стану, ожиріння або нетримання сечі, та якому це потрібно, що включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу.

В одному варіанті здійснення терапевтично ефективна кількість становить між приблизно 0,03 та приблизно 300мг.

В одному варіанті здійснення розлад являє собою депресію. В одному варіанті здійснення розлад являє собою тривожний стан. В одному варіанті здійснення винаходу розлад являє собою ожиріння. В одному варіанті здійснення винаходу розлад являє собою нетримання сечі.

Винаходом пропонуються сполуки, що мають структуру:



де кожний А являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, -OR₃ або C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний В являє собою незалежно N або CH;

де Z являє собою CO або SO₂;

де кожний R являє собою незалежно -H, -F або C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃, -SR₃, -COR₃, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -

Br, -I, -OR₂ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

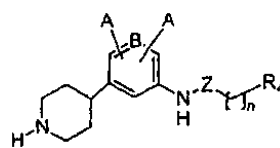
де кожний R₃ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;

де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN;

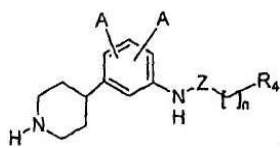
та де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно;

або їх фармацевтично прийнятні солі.

В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



В одному варіанті винаходу сполука має структуру:

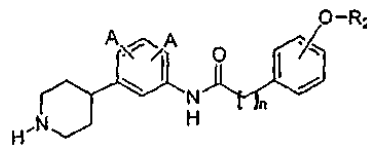


де R₄ являє собою арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₃ або C₁-C₇ алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом,

де кожний R₃ являє собою C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN або -OR₂; та

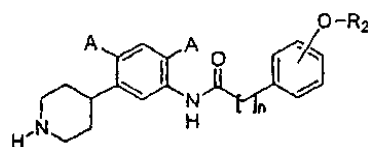
де кожний R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN.

В одному варіанті здійснення винахід являє собою сполуки, що мають структуру:



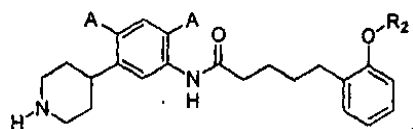
де R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂ або -CN. В одному варіанті здійснення сполука має структуру:

15



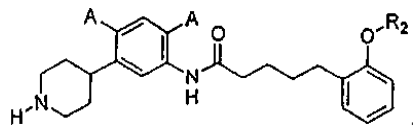
де R_2 являє собою C_1 - C_7 алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, та де n являє собою ціле число від 3 до 6 включно.

Сполука винаходу, де сполука має структуру:



де кожний А являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I.

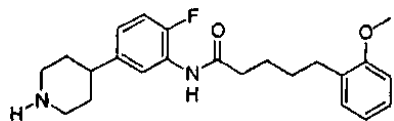
В одному варіанті сполука має структуру:



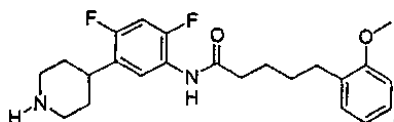
де кожний А являє собою незалежно -H, -F або -Cl; та

де R_2 являє собою C_1 - C_3 алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом.

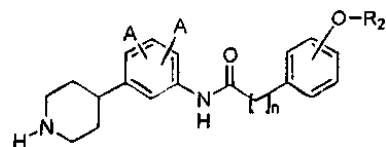
Сполука, що має структуру:



Сполука, що має структуру:



В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



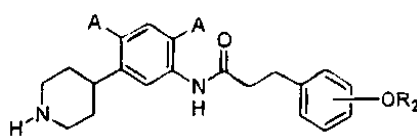
де R_2 являє собою арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂ або -CN, та

де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.

В одному варіанті здійснення сполука має структуру:

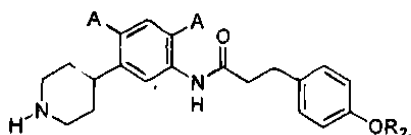
77536

16



де кожний А являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I.

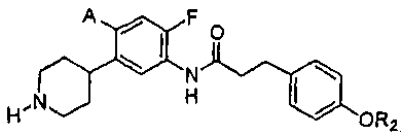
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



де кожний А являє собою незалежно -H, -F або -Cl; та

де R_2 являє собою арил, що необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl або -Br.

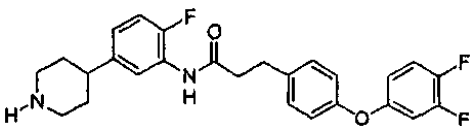
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



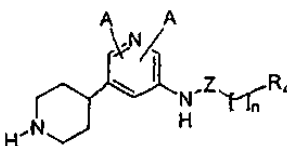
де кожний А являє собою незалежно -H, -F або -Cl; та

де R_2 являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F.

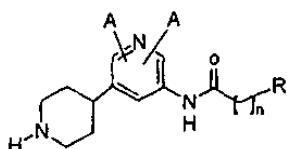
В одному варіанті сполука має структуру:



В одному варіанті сполука має структуру:



В одному варіанті сполука має структуру:



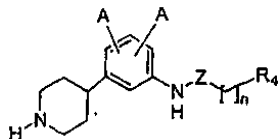
де R_4 являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -OR₃ або C_1 - C_7 алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R_3 являє собою незалежно C_1 - C_7 алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -

NO₂, -CN або -OR₂;

де кожний R₂ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом.

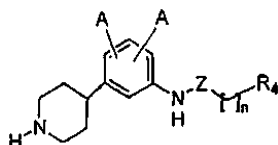
Цим винаходом далі пропонуються сполуки, що мають структуру:



де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃, -COR₃ або -SR₃;

де кожний R₃ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;

де R₂ являє собою -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN; та де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно. В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



де кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br або -I;

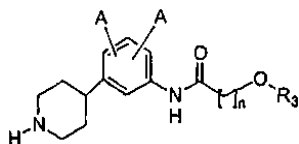
де R₄ являє собою незалежно -OR₃, -NHR₃ або -COR₃;

де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;

де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN; та

де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.

В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



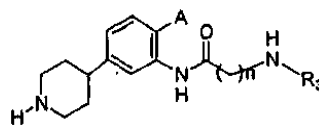
де кожний A являє собою незалежно -H або -F; де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -OR₂ або -NHR₂;

де R₂ являє собою незалежно C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом або арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br або -I; та

де n являє собою ціле число від 1 до 6 включно.

В одному варіанті здійснення винаходу сполу-

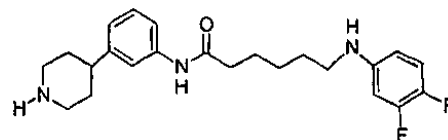
ка має структуру:



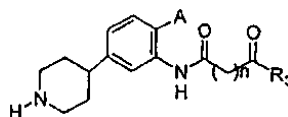
де A являє собою -H, -F, -Cl, -Br або -I;

де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I.

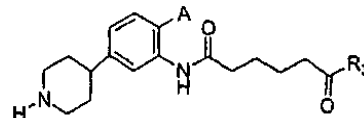
Сполука, що має структуру:



В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



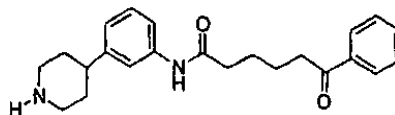
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



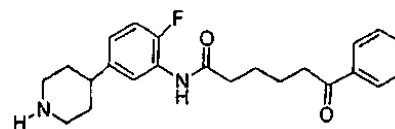
де A являє собою -H, -F, -Cl, -Br або -I;

де R₃ являє собою арил, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br або -I.

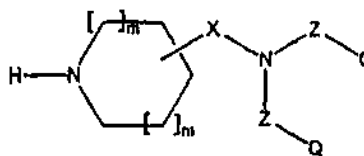
Сполука, що має структуру:



Сполука, що має структуру:



Цим винаходом також пропонуються сполуки, що мають структуру:



де кожний Q незалежно являє собою водень;

де кожний R_4 являє собою незалежно -H, - ZR_3 , - ZOR_3 , - OZR_3 , - $ZN(R_3)_2$, - $N(R_3)ZR_3$, - $N(R_3)ZN(R_3)_2$, C_1 - C_7 алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил, бензил або гетероарил, де арил, бензил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, - ZR_3 , - ZOR_3 , - OZR_3 , - $ZN(R_3)_2$, - $N(R_3)ZR_3$, - $N(R_3)ZN(R_3)_2$, -CN, - NO_2 , - SR_3 , - $(CH_2)_qOR_3$, - $(CH_2)_qSR_3$, арилом, бензилом, гетероарилом, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C_3 - C_7 циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

де кожний k являє собою незалежно ціле число від 1 до 3 включно;

де n являє собою ціле число від 0 до 6 включно;

де q являє собою ціле число від 1 до 3 включно;

або їх фармацевтично прийнятні солі.

Ілюстрацією винаходу є фармацевтична композиція, що включає фармацевтично прийнятний носій та фармацевтично ефективну кількість будь-якої сполуки, описаної вище.

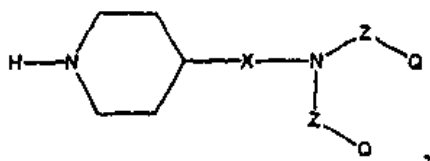
Ілюстрацією винаходу є фармацевтична композиція, виготовлена шляхом змішування будь-якої сполуки, описаної вище, та фармацевтично прийнятного носія.

Ілюстрацією винаходу є спосіб виготовлення фармацевтичної композиції, який включає змішування будь-якої сполуки, описаної вище, та фармацевтично прийнятного носія.

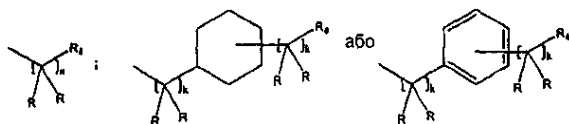
Ілюстрацією винаходу є спосіб синтезу для виготовлення будь-якої сполуки, описаної вище.

Прикладом винаходу є спосіб лікування стану, опосередкованого рецептором MCH1, у суб'єкта, якому це необхідно, який включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості будь-якої сполуки або фармацевтичної композиції, описаної вище, та фармацевтично прийнятного носія.

Цим винаходом також пропонуються сполуки, що мають структуру:



де кожний Q являє собою незалежно водень;



де X являє собою феніл або гетероцикл, що містить азот, де феніл або гетероцикл, що містить азот, необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, - ZR_3 , - ZOR_3 , - OZR_3 , - $ZN(R_3)_2$, - $N(R_3)ZR_3$, - $N(R_3)ZN(R_3)_2$, -CN, - NO_2 , - SR_3 , -

$(CH_2)_qOR_3$, - $(CH_2)_qSR_3$, арилом, фенокси або гетероарилом, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C_3 - C_7 циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

де кожний Z являє собою незалежно CO, CS, SO_2 або може бути відсутнім;

де кожний R являє собою незалежно -H, -F, C_1 - C_7 алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкеніл або алкініл з прямим або розгалуженим ланцюгом, - $N(R_3)_2$, - NO_2 , -CN, - CO_2R_3 , - $OCOR_3$, - OR_3 , - $N(R_3)COR_3$ або - $CON(R_3)_2$;

де кожний R_2 являє собою незалежно -H, C_1 - C_7 алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R_3 являє собою незалежно -H, C_1 - C_7 алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкеніл або алкініл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_3 - C_7 циклоалкіл, монофторциклоалкіл, поліфторциклоалкіл або циклоалкеніл, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -N, $(R_2)_2$, - NO_2 , -CN, - COR_2 , - CO_2R_2 , - $OCOR_2$, - OR_2 , - $N(R_2)COR_2$, - $N(R_2)CON(R_2)_2$, - $CON(R_2)_2$, арилом, гетероарилом, фенокси, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_3 - C_7 циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

де кожний R_4 являє собою незалежно -H, - ZR_3 , - ZOR_3 , - OZR_3 , $ZN(R_3)_2$, - $N(R_3)ZR_3$, - $N(R_3)ZN(R_3)_2$, C_1 - C_7 алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил, бензил або гетероарил, де арил, бензил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, - ZR_3 , - ZOR_3 , - OZR_3 , - $ZN(R_3)_2$, - $N(R_3)ZR_3$, - $N(R_3)ZN(R_3)_2$, -CN, - NO_2 , - SR_3 , - $(CH_2)_qOR_3$, - $(CH_2)_qSR_3$, арилом, бензилом, гетероарилом, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C_3 - C_7 циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

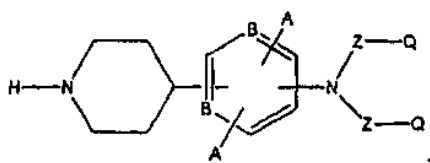
де кожний k являє собою незалежно ціле число від 1 до 3 включно;

де n являє собою ціле число від 0 до 6 включно;

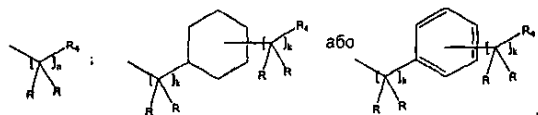
де q являє собою ціле число від 1 до 3 включно;

або їх фармацевтично прийнятні солі.

Цим винаходом також пропонуються сполуки, що мають структуру:



де кожний Q являє собою незалежно водень;



де кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br, -I, -Z_{R3}, -ZOR₃, -OZR₃, -ZN(R₃)₂, -N(R₃)ZR₃, -N(R₃)ZN(R₃)₂, -CN, -NO₂, -N(R₃)₂, -OR₃, -SR₃, -(CH₂)_qOR₃, -(CH₂)_qSR₃, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкеніл або алкініл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₃-C₇ циклоалкіл, монофторциклоалкіл, поліфторциклоалкіл або циклоалкеніл;

де кожний B являє собою незалежно N або CH;

де кожний Z являє собою незалежно CO, CS, SO₂ або може бути відсутнім;

де кожний R являє собою незалежно -H, -F, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкеніл або алкініл з прямим або розгалуженим ланцюгом, -N(R₃)₂, -NO₂, -CN, -CO₂R₃, -OCOR₃, -OR₃, -N(R₃)COR₃ або -CON(R₃)₂;

де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, C₁-C₇ алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R₃ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкеніл або алкініл з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₃-C₇ циклоалкіл, монофторциклоалкіл, поліфторциклоалкіл або циклоалкеніл, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -N(R₂)₂, -NO₂, -CN, -COR₂, -CO₂R₂, -OCOR₂, -OR₂, -N(R₂)COR₂, -N(R₂)CON(R₂)₂, -CON(R₂)₂, арилом, гетероарилом, фенокси, C₁-C₇ алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₃-C₇ циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

де кожний R₄ являє собою незалежно -H, -Z_{R3}, -ZOR₃, -OZR₃, -ZN(R₃)₂, -N(R₃)ZR₃, -N(R₃)ZN(R₃)₂, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил, бензил або гетероарил, де арил, бензил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -Z_{R3}, -ZOR₃, -OZR₃, -ZN(R₃)₂, -N(R₃)ZR₃, -N(R₃)ZN(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -(CH₂)_qOR₃, -(CH₂)_qSR₃, арилом, бензилом, гетеро-

арилом, C₁-C₇ алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C₃-C₇ циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом;

де кожний k являє собою незалежно ціле число від 1 до 3 включно;

де n являє собою ціле число від 0 до 6 включно;

де q являє собою ціле число від 1 до 3 включно,

або їх фармацевтично прийнятні солі.

В одному варіанті здійснення кожний A являє собою незалежно -H, -F, -Cl, -Br, -I, -Z_{R3}, -ZOR₃, -OZR₃, -ZN(R₃)₂, -N(R₃)ZR₃, -N(R₃)ZN(R₃)₂, -N(R₃)₂, -OR₃, -SR₃, -(CH₂)_qOR₃, -(CH₂)_qSR₃, C₁-C₇ алкіл, монофторалкіл або поліфторалкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

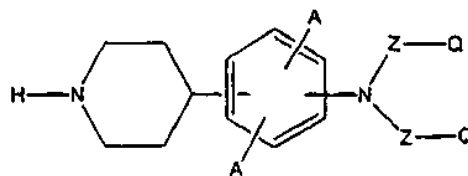
де кожний Z являє собою незалежно CO, CS або може бути відсутнім;

де кожний R являє собою незалежно -H, -F або C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом;

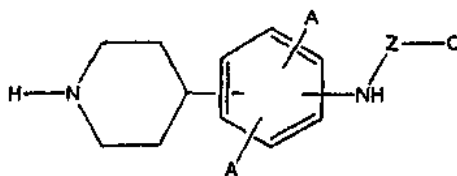
де кожний R₂ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, C₁-C₇ алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C₂-C₇ алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом;

де кожний R₃ являє собою незалежно -H, C₁-C₇ алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом, арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, -N(R₂)₂, -NO₂, -CN, -COR₂, -CO₂R₂, -OCOR₂, -OR₂, -N(R₂)COR₂, -N(R₂)CON(R₂)₂, -CON(R₂)₂, арилом, гетероарилом, фенокси, C₁-C₇ алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₂-C₇ алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C₃-C₇ циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом.

В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



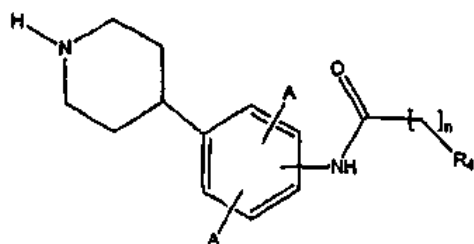
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



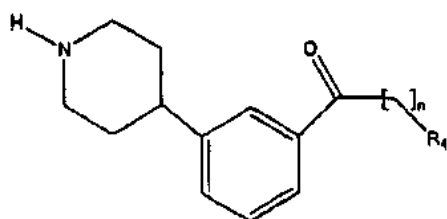
В одному варіанті здійснення сполука має

25

структуру:

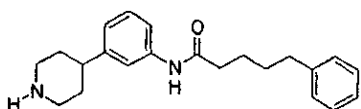


В одному варіанті здійснення сполука має структуру:

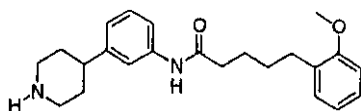


де R_4 являє собою арил, де арил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, C_1 - C_7 алкілом, монофторалкілом або поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом або алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом або C_3 - C_7 циклоалкілом, монофторциклоалкілом, поліфторциклоалкілом або циклоалкенілом.

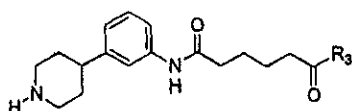
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



В одному варіанті здійснення сполука має структуру:

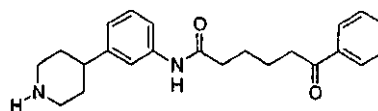


де R_3 являє собою арил або гетероарил, де арил або гетероарил необов'язково заміщений одним або більше -F, -Cl, -Br, -I, $-N(R_2)_2$, $-NO_2$, $-CN$, $-COR_2$, $-CO_2R_2$, $-OCOR_2$, $-OR_2$, $-N(R_2)COR_2$, $-N(R_2)CON(R_2)_2$, $-CON(R_2)_2$, арилом, гетероарилом, фенокси, C_1 - C_7 алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом.

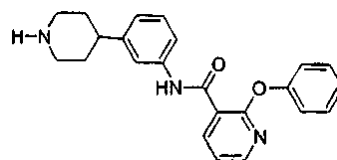
В одному варіанті здійснення сполука має структуру:

77536

26



В одному варіанті здійснення сполука має структуру:



Як застосовується в описаних вище винаходах, термін "гетероарил" позначає п'яти- і шестичленні ненасичені кільця, що можуть містити один або більше атомів кисню, сірки або азоту. Приклади гетероарильних груп включають, проте не обмежуються лише ними, карбазол, фураніл, тієніл, піроліл, оксазоліл, тiazоліл, імідазоліл, піразоліл, ізоксазоліл, ізотіазоліл, оксадіазоліл, триазоліл, тіадіазоліл, піридил, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл та триазиніл.

Крім того, використовуваний тут термін "гетероарил" позначає сконденсовані біциклічні кільцеві системи, що можуть містити один або декілька гетероатомів, таких як кисень, сірка й азот. До прикладів таких гетероарильних груп належать, але не обмежуються тільки ними, індолізиніл, індоліл, ізоіндоліл, бензо[b]фураніл, бензо[b]тіофеніл, індазоліл, бензімідазоліл, пуриніл, бензоксазоліл, бензізоксазоліл, бензо[b]тіазоліл, імідазо[2,1-b]тіазоліл, циннолініл, хіназолініл, хіноксалініл, 1,8-нафтиридиніл, птеридиніл, хінолініл, ізохінолініл, фталіміділ та 2,1,3-бензотіазоліл.

Термін "гетероарил" також позначає ті перелічені вище хімічні групи, що можуть бути заміщені однією або декількома наступними групами: -F, -Cl, -Br, -I, -CN, $-NO_2$, C_1 - C_7 алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_1 - C_7 монофторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_1 - C_7 поліфторалкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкенілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_2 - C_7 алкінілом з прямим або розгалуженим ланцюгом, C_3 - C_7 циклоалкілом, C_3 - C_7 монофторциклоалкілом, C_3 - C_7 поліфторциклоалкілом, C_5 - C_7 циклоалкенілом.

Термін "гетероарил" далі включає N-оксиди тих хімічних груп, які перелічені вище, що включають принаймні один атом азоту. У цьому винаході термін "арил" позначає феніл або нафтил.

У подальшому варіанті здійснення вищезгаданого винаходу сполука є енантіомерно та діастеріомерно чистою. В іншому варіанті здійснення сполука є енантіомерно або діастеріомерно чистою.

В одному варіанті здійснення сполука являє собою (+)-енантіомер. В одному варіанті здійснення сполука являє собою (-)-енантіомер.

Даний винахід відноситься до кожного чистого стереоізомера будь-якої сполуки, описаної тут. Такі стереоізомери можуть включати енантіомери, діастереомери або E або Z алкенові або імінові ізомери. Винахід також відноситься до стереоізомерних сумішей, включаючи рацемічні суміші, ді-

стереоізомерні суміші або E/Z ізомерні суміші. Стереоізомери можуть бути синтезовані в чистому виді [Nogradi, M.; *Stereoselective Synthesis*, (1987) VCH Editor Ebel, H. та *Asymmetric Synthesis*, Volumes 3 B 5, (1983) Academic Press, Editor Morrison, J.] або вони можуть бути виділені за будь-яким з численних способів, таких як кристалізація і методи хроматографії [Jaques, J.; Collet, A.; Wilen, S.; *Enantiomer, Racemates, and Resolutions*, 1981, John Wiley and Sons and *Asymmetric Synthesis*, Vol. 2, 1983, Academic Press, Editor Morrison, J.].

Крім того, сполуки за цим винаходом можуть бути отримані у виді енантіомерів, діастереомерів, ізомерів або дві або декілька сполук можуть існувати у виді рацемічної або діастереомерної суміші.

Сполуки за цим винаходом є переважно на 80% чистими, більш переважно на 90% чистими і найбільш переважно на 95% чистими. До цього винаходу відносяться фармацевтично прийнятні солі та комплекси усіх сполук, описаних тут. Кислоти і основи, з яких одержують ці солі, включають, але не обмежуються тільки ними, перелічені тут кислоти і основи. Кислоти включають, але не обмежуються тільки ними, наступні неорганічні кислоти: хлористоводневу кислоту, бромистоводневу кислоту, йодистоводневу кислоту, сірчану кислоту і борну кислоту. Кислоти включають, але не обмежуються тільки ними, наступні органічні кислоти: оцтову кислоту, малонову кислоту, бурштинову кислоту, фумарову кислоту, винну кислоту, малеїнову кислоту, лимонну кислоту, метансульфонову кислоту, бензойну кислоту, гліколеву кислоту, молочну кислоту і мигдалеву кислоту. Основи включають, але не обмежуються тільки ними, наступні органічні основи: амоній, метиламін, етиламін, пропіламін, диметиламін, діетиламін, триметиламін, триетиламін, етилендіамін, гідроксietiламін, морфолін, піперазин і гуанідин. Цей винахід також відноситься до гідратів і поліморфів усіх описаних тут сполук.

В обсяг цього винаходу входять проліки сполук даного винаходу. Звичайно такими проліками являються функціональні похідні сполук за цим винаходом, які легко перетворюються *in vivo* на необхідну сполуку. Таким чином, у цьому винаході термін "введення" охоплює лікування різних описаних станів конкретно описаною сполукою або сполукою, яка може бути конкретно не описаною, але яка перетвориться на конкретну сполуку *in vivo* після введення пацієнту. Звичайні способи вибору й одержання придатних пролікових похідних описані, наприклад, у [Design of Prodrugs, ed. Bongaard, Elsevier, 1985].

Цей винахід далі відноситься до метаболітів сполук за цим винаходом. Метаболіти включають активні типи сполук, одержувані при введенні сполук за цим винаходом в біологічне середовище.

Ілюстрацією винаходу є фармацевтична композиція, що включає фармацевтично прийнятний носій та терапевтично ефективну кількість будь-якої сполуки винаходу.

Ілюстрацією винаходу є фармацевтична композиція, виготовлена шляхом змішування будь-якої сполуки, описаної вище, та фармацевтично прийнятного носія.

Ілюстрацією винаходу є спосіб виготовлення

фармацевтичної композиції, який включає змішування будь-якої сполуки винаходу та фармацевтично прийнятного носія.

Твердий носій може містити одну або декілька речовин, що можуть діяти як ендogenous носії (наприклад, поживні речовини або поживні мікроелементи), ароматизатори, змащувальні агенти, солюбілізатори, суспендувальні агенти, наповнювачі, ковзні агенти, ущільнювальні добавки, зв'язувальні агенти або дезінтегратори таблеток; ним також може бути інкапсулювальний матеріал. У порошках носій є дрібнодиспергованою твердою речовиною, що знаходиться в суміші з дрібнодиспергованим активним інгредієнтом. У таблетках активний інгредієнт змішаний з носієм, який має необхідні властивості щодо пресування, у придатних пропорціях і спресований до потрібної форми та розміру. Порошки і таблетки переважно містять до 99% активного інгредієнта. Придатні тверді носії містять, наприклад, фосфат кальцію, стеарат магнію, тальк, сахари, лактозу, декстрин, крохмаль, желатин, целюлозу, полівінілпіролідін, віск з низькою температурою плавлення та іонно-обмінні полімери.

Рідкі носії використовуються для одержання розчинів, суспензій, емульсій, сиропів, еліксирів і герметичних композицій. Активний інгредієнт може бути розчинений або суспендований у фармацевтично прийнятному рідкому носії, такому як вода, органічний розчинник, їх суміш або фармацевтично прийнятні олії або жири. Рідкий носій може містити інші придатні фармацевтичні добавки, такі як солюбілізатори, емульгатори, буфери, консерванти, підсолоджувачі, ароматизатори, суспендувальні агенти, загусники, барвники, регулятори в'язкості, стабілізатори або осморегулятори. Придатні приклади рідких носіїв для перорального та парентерального введення включають воду (яка частково містить добавки, описані вище, наприклад, похідні целюлози, переважно розчин карбоксиметилцелюлози натрію), спирти (включаючи одноатомні спирти та багатоатомні спирти, наприклад, гліколи) та їхні похідні та олії (наприклад, фракціоновані кокосову олію й арахісову олію). Для парентерального введення носій також може бути складним ефіром жирної кислоти, таким як етилолеат або ізопропілміристат. Стерильні рідкі носії використовуються в стерильних рідких композиціях для парентерального введення. Рідкий носій для герметичних композицій може бути галогенованим вуглеводнем або іншим фармацевтично прийнятним диспергатором.

Рідкі фармацевтичні композиції, які є стерильними розчинами або суспензіями, можуть використовуватися, наприклад, за допомогою внутрішньом'язової, інтратекальної, епідуральної, інтраперитонеальної або підшкірної ін'єкції. Стерильні розчини можуть також вводитися внутрішньо. Сполуки можуть бути приготовані у виді стерильної твердої композиції, яку можна розчиняти або суспендувати під час введення, використовуючи стерильну воду, фізіологічний розчин або інше придатне стерильне ін'єкційне середовище. Носії призначені для включення до них необхідних та інертних зв'язувальних агентів, суспендувальних агентів, змащувальних речовин, ароматизато-

рів, підсолоджувачів, консервантів, барвників й покривних речовин. Сполуки можуть вводитися перорально у формі стерильного розчину або суспензії, що містить інші розчинені речовини або суспендувальні агенти (наприклад, достатню кількість фізіологічного розчину або глюкози для надання розчину ізотонічності), солі жовчних кислот, гуміарабік, желатин, сорбітанмонолеат, полісорбат 80 (олеатні естери сорбіту та його ангідриди, сополімеризовані з етиленоксидом) тощо.

Сполука також може вводитися перорально у формі рідкої або твердої композиції. Композиції, що підходять для перорального введення включають тверді форми, такі як пігулки, капсули, гранули, таблетки і порошки, й рідкі форми, такі як розчини, сиропи, еліксири і суспензії. Форми, придатні для парентерального введення, включають стерильні розчини, емульсії та суспензії.

Оптимальна доза введення може бути визначена фахівцем у даній галузі та може змінюватися в залежності від конкретної використовуваної сполуки, концентрації лікарського засобу, шляху введення та від тяжкості захворювання. Додаткові фактори, що залежать від певного хворого, якого лікують, можуть призводити до необхідності додаткових доз і включають вік хворого, масу, стать, режим харчування і час введення.

Ілюстрацією винаходу є спосіб синтезу для одержання будь-якої сполуки винаходу.

Прикладом винаходу є спосіб лікування розладу, опосередкованого рецептором MCH1, у суб'єкта, якому це необхідно, який включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості будь-якої сполуки або фармацевтичної композиції винаходу та фармацевтично прийнятного носія.

В одному варіанті здійснення терапевтично ефективна кількість становить від приблизно 0,03 до приблизно 300мг.

В одному варіанті здійснення розлад являє собою депресію. В одному варіанті здійснення розлад являє собою тривожний стан. В одному варіанті здійснення розлад являє собою ожиріння. В одному варіанті здійснення розлад являє собою нетримання сечі.

Один варіант здійснення являє собою спосіб лікування суб'єкта, який страждає на розлад, вибраний з депресії, тривожного стану, ожиріння та нетримання сечі, та якому це необхідно, що включає введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу.

В одному варіанті здійснення терапевтично ефективна кількість становить від приблизно 0,03 до приблизно 300мг.

В іншому варіанті здійснення розлад являє собою депресію. В одному варіанті здійснення розлад являє собою тривожний стан. В одному варіанті здійснення розлад являє собою ожиріння. В одному варіанті здійснення розлад являє собою нетримання сечі.

В предметі винаходу за даною заявкою, "терапевтично ефективною кількістю" є будь-яка кількість сполуки, яка при введенні хворому, що страждає захворюванням, у відношенні якого ці сполуки є ефективними, викликає зниження, ремісію або регресію захворювання. В предметі винаходу за даною заявкою, "суб'єктом" є хребетне,

ссавець або людина.

Цей винахід відноситься до способу лікування суб'єкта з патологією, яка зменшується при зниженні активності рецептора MCH1, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, яка є антагоністом рецептора MCH1, для лікування патології суб'єкта.

У конкретних варіантах здійснення патологією є порушення регуляції стероїдного гормону або гормону гіпофіза, порушення вивільнення епінефрину, шлунково-кишковий розлад, серцево-судинне захворювання, порушення електролітного балансу, підвищений тиск, діабет, порушення дихання, астма, порушення репродуктивної функції, порушення імунної системи, порушення ендокринної системи, скелетно-м'язове порушення, нейроендокринні порушення, когнітивний розлад, розлад пам'яті, такий як хвороба Альцгеймера, порушення сенсорної модуляції й передачі, порушення координації руху, порушення сенсорної інтеграції, порушення моторної інтеграції, порушення дофамінергічної функції, таке як хвороба Паркінсона, порушення сенсорної передачі, порушення нюху, порушення симпатичної іннервації, афективний розлад, такий як депресія й тривожний стан, розлад, пов'язаний зі стресом, порушення водного балансу, судорожні припадки, біль, психотична поведінка, така як шизофренія, пристрасть до морфіну й опіатів, мігрень або сечовий розлад, такий як нетримання сечі.

У кращому варіанті здійснення цей винахід відноситься до способу лікування наступного: депресії, тривожного стану, порушення харчування/маси тіла й сечових розладів. Прикладами порушення харчування/маси тіла є ожиріння, булімія або нейрогенна булімія. Приклади сечових розладів включають, але не обмежуються тільки ними, нетримання сечі при напрузі, гіперактивний сечовий міхур, невідкладне нетримання сечі, часті сечовипускання, невідкладний позив до сечовипускання, ніктурію або енурез. Гіперактивний сечовий міхур і невідкладний позив до сечовипускання можуть бути як пов'язані, так і не пов'язані із доброякісною гіперплазією простати.

Цей винахід відноситься до способу модифікування харчової поведінки суб'єкта, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективної для зменшення споживання їжі суб'єктом.

Цей винахід також відноситься до способу лікування харчових порушень у суб'єкта, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективної для зменшення споживання їжі суб'єктом. В одному з варіантів здійснення цього винаходу харчовим порушенням є булімія, ожиріння або нейрогенна булімія. В одному з варіантів здійснення даного винаходу суб'єктом є хребетне, ссавець, людина або собака. У ще одному варіанті здійснення сполука вводиться з їжею.

Цей винахід також відноситься до способу зниження маси тіла у суб'єкта, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективної для зниження маси тіла у суб'єкта.

Цей винахід також відноситься до способу лікування суб'єкта, що страждає на депресію, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за

цим винаходом, ефективною для лікування депресії у суб'єкта. Цей винахід також відноситься до способу лікування суб'єкта з тривожним станом, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективною для лікування тривожного стану у суб'єкта. Цей винахід також відноситься до способу лікування суб'єкта з депресією і тривожним станом, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективною для лікування депресії та тривожного стану у суб'єкта.

Цей винахід також відноситься до способу лікування суб'єкта, що страждає великим депресивним розладом, дистимічним розладом, біполярними розладами I і II, шизоафективним розладом, когнітивним розладом з депресивним настроєм, розладом особистості, інсомнією, гіперсомнією, нарколепсією, порушенням циркадного ритму, стражданнями на кошмари, приступами інтенсивного страху під час сну, сомнамбулізмом, обсесивно-компульсивним розладом, панічним розладом з агорафобією або без неї, посттравматичним стресовим розладом, соціальним тривожним розладом, соціальною фобією і генералізованим тривожним розладом.

Цей винахід також відноситься до способу лікування суб'єкта, що страждає сечовим розладом, який полягає у введенні суб'єкту кількості сполуки за цим винаходом, ефективною для лікування сечового розладу у суб'єкта. У деяких варіантах здійснення, сечовим розладом є нетримання сечі при напрузі, гіперактивний сечовий міхур, невідкладне нетримання сечі, часті сечовипускання, невідкладний позив до сечовипускання, ніктурію або енурез.

Цей винахід буде краще зрозумілим з розділу "Експериментальна частина", наведеного далі. Проте фахівцю в даній галузі без зусиль буде зрозуміло, що розглянуті конкретні способи й результати, є просто ілюстративними для даного винаходу, як описано більш докладно у формулі винаходу, що додана до цього опису винаходу.

Експериментальна частина

I. Синтез хімічних сполук

Загальні способи: Усі реакції здійснювали в атмосфері аргону та реагенти, без розчинника або у відповідних розчинниках, переносили у реакційну судину за допомогою шприца та канюлі. Дослідження паралельних реакцій синтезу проводили в пробірках (без інертної атмосфери), застосовуючи нагрівальні шейкери J-KEM (Saint Louis, MO). Безводні розчинники були придбані у Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI) і використовувалися такими, якими вони були одержані.

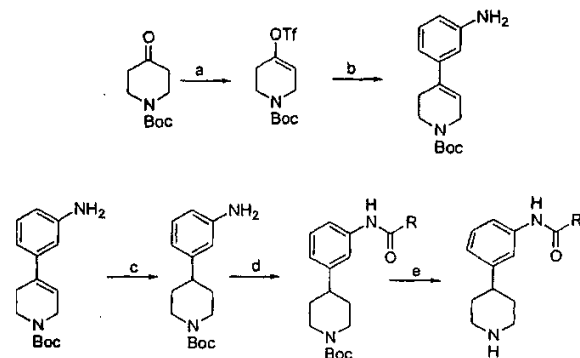
Якщо не вказано інше, спектри ^1H записували при 400 МГц (Bruker, Model: Avance) з тетраметилсиланом як внутрішній стандарт, с = синглет, д = дублет, т = триплет, кв. = кuartет, квін. = квінтет, секстет, септет, ушир. = уширений, м = мультиплет.

Елементні аналізи проводили Robertson Microlit Laboratories, Inc. Якщо не зазначено іншого, мас-спектри одержували на приладі VG Platform II, застосовуючи електророзпилювач (ESI-MS) і вказували MH^+ . Тонкошарову хроматографію (ТШХ) виконували на скляних пластинах, поперед-

ньо покритих силікагелем 60 F_{254} (0,25 мм, EM Separations Tech.). Препаративну тонкошарову хроматографію виконували на скляних пластинах, попередньо покритих силікагелем GF (2 мм, Analtech). Флеш-хроматографію на колонках виконували на силікагелі Merck 60 (230-400 меш). Точки плавлення (mp) визначали на відкритих капілярних трубках на апараті Mel-Temp та їх не коректували.

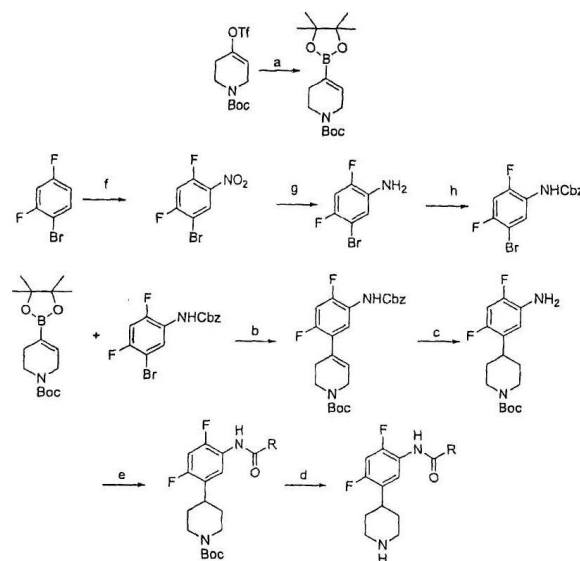
Наступні схеми ілюструють способи синтезу сполук цього винаходу

Схема I



(a) $\text{LDA}/\text{PhNTf}_2/\text{THF}/ -78^\circ\text{C}$, потім 0°C протягом ночі. (b) Амінофенілборонова кислота/ $\text{Pd}(\text{PPh})_4/\text{LiCl}/\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{DME}-\text{H}_2\text{O}/$ кип'ятили у колбі зі зворотним холодильником протягом 3 годин, (c) 10% $\text{Pd}/\text{C}/\text{H}_2/\text{EtOH}/$ кімнатна температура протягом 24-48 годин, (d) Хлорангідрид кислоти/триетиламін/ $\text{THF}/ 0^\circ\text{C}$, потім кімнатна температура протягом 2-3 годин або карбонова кислота/ $\text{EDC}/\text{DMAP}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}/$ кімнатна температура протягом 12 годин, (e) 4M HCl у 1,4-діоксані/ кімнатна температура протягом 1 години або $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/$ кімнатна температура протягом 10 хвилин.

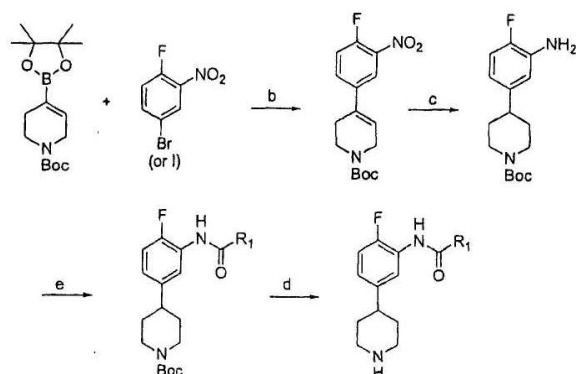
Схема II



(a) Біс(пінаcolato)дибор/ $\text{KOAc}/\text{PdCl}_2\text{dppf}/\text{dpppf}/$

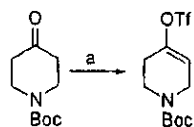
80°C протягом ночі, (b) $K_2CO_3/PdCl_2$ dpfp/DMF/ 80°C протягом ночі, (c) 10% Pd/C /H₂/EtOH/ кімнатна температура протягом 24-72 годин, (d) 4M HCl у 1,4-діоксані/ кімнатна температура протягом 1 години або TFA/CH₂Cl₂/ кімнатна температура протягом 10 хвилин, (e) Карбонова кислота/EDC/DMP/CH₂Cl₂/DMF/ кімнатна температура протягом 12 годин, (f) H₂SO₄/HNO₃, 0°C, 10 хвилин, (g) Fe/NH₄Cl/THF/H₂O/EtOH/ 95°C протягом 1,5 години, (h) Chz-Cl/NaHCO₃/CH₃CN/ кімнатна температура протягом 12 годин.

Схема III



(b) $K_2CO_3/PdCl_2$ dpfp/DMF/ 85°C 24 години, (c) 10% Pd/C/H₂ (200psi (фунтів на квадратний дюйм))/EtOAc/MeOH/ кімнатна температура протягом 24 годин - 72 годин, (d) 4M HCl у 1,4-діоксані/ кімнатна температура протягом 1 години або TFA/CH₂Cl₂/ кімнатна температура протягом 0,2 години, (e) Карбонова кислота/EDC/DMP/CH₂Cl₂/DMF/ кімнатна температура протягом 12 годин.

Загальна процедура синтезу піперидину (схема 1)

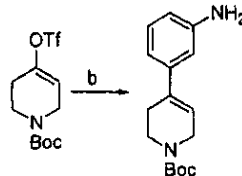


Трет-бутил

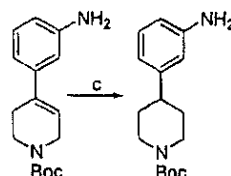
4-

4-[[[(трифторметил)сульфоніл]окси]-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат: n-бутиллітій (17,6мл, 44,2ммоль, 2,5M у гексанах) додали до розчину діізопропіламіну (96,2мл, 44,2ммоль) у безводному THF (40,0мл) при температурі 0°C та одержану суміш перемішували протягом 20 хвилин. Реакційну суміш охолодили до -78°C та трет-бутил 4-оксо-1-піперидинкарбоксилат [Aldrich Chemical Company, 7,97г, 40,0ммоль] у THF (40,0мл) додавали краплями до реакційної суміші, яку потім перемішували протягом 30 хвилин. Tf₂NPh (42,0ммоль, 15,0г) у THF (40,0мл) додавали краплями до реакційної суміші та реакційну суміш перемішували при 0°C протягом ночі. Реакційну суміш концентрували в умовах вакууму, знову розчинили у гексанах: EtOAc (9:1), пропустили крізь шар оксиду алюмінію та шар оксиду алюмінію промили гексанами:EtOAc (9:1). Об'єднані екстракти концентрували в умовах вакууму, внаслідок

чого отримали бажаний продукт (16,5г), забруднений деякою кількістю початкового матеріалу Tf₂NPh: ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 5,77 (с, 1H), 4,05 (дм, 2H, J=3,0Гц), 3,63 (т, 2H, J=5,7Гц), 2,45 (м, 2H), 1,47 (с, 9H).



Трет-бутил 4-(3-амінофеніл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат: Дегазовану суміш 2,0M водного розчину Na₂CO₃ (4,20мл), трет-бутил 4-[[[(трифторметил)сульфоніл]окси]-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилату (0,500г, 1,51ммоль), гемісульфату 3-амінофенілкарбонової кислоти (0,393г, 2,11ммоль), хлориду літію (0,191г, 4,50ммоль) та тетракістрифенілфосфінпаладію (0,080г, 0,075ммоль) у диметоксигетані (5,00мл) нагрівали при температурі дефлегмації протягом 3 годин в атмосфері аргону. Органічний шар охолодженої реакційної суміші відокремили та водний шар промили етилацетатом (3x50мл). Об'єднані органічні розчини висушили та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт піддали хроматографії (сілікагель, гексани:EtOAc:дихлорметан 6:1:1 з 1% ізопропіламіном), внаслідок чого отримали бажаний продукт (0,330г, 81%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,12 (т, 1H, J=7,60Гц), 6,78 (д, 1H, J=8,4Гц), 6,69 (т, 1H, J=2,0Гц), 6,59 (дд, 1H, J=2,2, 8,0Гц), 6,01 (ушир, 1H), 4,10-4,01 (д, 2H, J=2,4Гц), 3,61 (т, 2H, J=5,6Гц), 2,52 - 2,46 (м, 2H), 1,49 (с, 9H), ESMS m/e: 275,2 (M+H)⁺. Розраховано для C₁₆H₂₄N₂O₂: C, 70,04; H, 8,08; N, 10,21. Знайдено: C, 69,78; H, 7,80; N, 9,92.

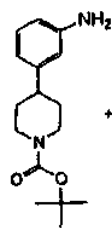


Трет-бутил

4-[3-(аміно)феніл]-1-

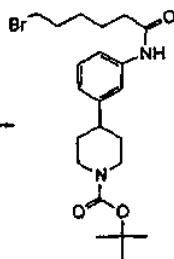
піридинкарбоксилат: Суміш трет-бутил 4-(3-амінофеніл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилату (3,10г, 11,3ммоль) та 10% Pd/C (1,00г) в етанолі (100мл) гідрували при кімнатній температурі, застосовуючи балонний спосіб протягом 2 днів. Реакційну суміш профільтрували крізь Celite (броунмілерит) та промили етанолом. Об'єднані етанолові екстракти концентрували в умовах вакууму та залишок піддали хроматографії на сілікагелі (дихлорметан:метанол:ізопропіламін 95:5:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт (2,63г, 84%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,10 (т, 1H, J=7,6Гц), 6,62 (д, 1H, J=8,4Гц), 6,60-6,59 (м, 2H), 4,27-4,18 (м, 2H), 3,62-3,58 (м, 2H), 2,80-2,72 (м, 2H), 2,62-2,59 (м, 1H), 1,89-1,52 (м, 4H), 1,49 (с, 9H), ESMS m/e: 277,2 (M+H)⁺.

35

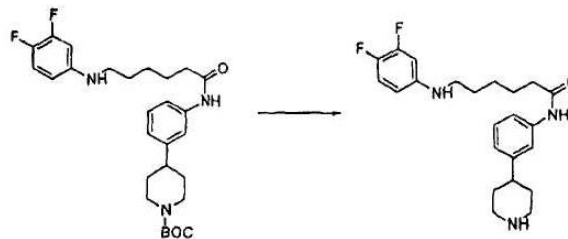


Трет-бутил 4-{3-[(6-бромгексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат. 25-мл круглодонну колбу, наповнену трет-бутил-4-[3-(аміно)феніл]-1-піперидинкарбоксилатом (2,00ммоль, 0,553г), 6-бромогексаноїлхлоридом (0,427г, 2,00ммоль, 1,0екв.), триетиламіном (0,404г, 4,00ммоль) та THF (8,00мл), перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш розбавили хлороформом (50мл) та промили водою (100мл), сольовим розчином, висушили над $MgSO_4$ та концентрували в умовах вакууму. Залишок очистили шляхом хроматографії (сілікагель, гексани/EtOAc 10:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт (0,921г, 95,8%). 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ 7,47 (с, 1H), 7,28-7,22 (м, 2H), 7,11 (с, 1H), 6,5 (д, 1H, $J=7,0$ Гц), 3,45-3,39 (м, 2H), 2,85-2,70 (м, 2H), 2,68-2,58 (м, 1H), 2,37 (т, 2H, $J=7,4$ Гц), 1,96-1,71 (м, 7H), 1,68-1,50 (м, 5H), 1,48 (с, 9H), ESMS m/e : 355,4, 476,6.

77536



36



Приклад 6: 6-(3,4-дифтораніліно)-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]-гексанаїд. До розчину трет-бутил 4-{3-[(6-(3,4-дифтораніліно)гексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилату (11,2мг, 0,0224ммоль) в дихлорметані (0,500мл) при 0°C повільно додавали трифторооцтову кислоту (25,5мг, 2,24ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин та концентрували у вакуумі. Залишок розчинили у i -PrOH/ $CHCl_3$ (1:3; 10мл) і підлужували до pH 11 10% KOH, промили водою, потім соляним розчином. Органічний шар висушили над $MgSO_4$ та концентрували в умовах вакууму, одержуючи бажаний продукт (8,98мг, 99%): 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ 7,39-7,08 (м, 5H), 7,06-6,94 (м, 2H), 6,91-6,81 (м, 1H), 6,77-6,67 (м, 1H), 3,54-3,42 (м, 2H), 3,25-3,04 (м, 3H), 2,91-2,80 (м, 1H), 2,45-2,32 (м, 2H), 2,11-1,99 (м, 2H), 1,98-1,83 (м, 2H), 1,80-1,62 (м, 4H), 1,55-1,40 (м, 2H), 1,34-1,23 (м, 1H), ESMS m/e : 402,2 ($M+H$)⁺.

Наступні сполуки були одержані у відповідності зі схемою I.

Приклад 1

5-(2-метоксифеніл)-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]пентанамід: трет-бутил 4-{3-[(5-(2-метоксифеніл)пентаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат зазнав процедури згідно зі схемою I, внаслідок чого отримали продукт: 1H ЯМР (400МГц, CD_3Cl_3) δ 7,52-6,68 (м, 8H), 3,74 (с, 3H), 3,61-3,35 (м, 2H), 3,14-2,90 (м, 2H), 2,88-2,56 (м, 3H), 2,52-2,27 (м, 2H), 2,10-1,51 (м, 8H), ESIMS m/e : 367,2 [$M+H$]⁺.

Приклад 2

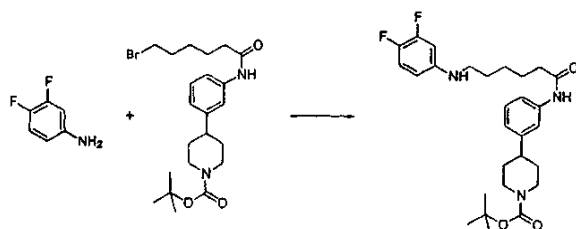
5-феніл-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]пентанамід: трет-бутил 4-{3-[(5-фенілпентаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат зазнав процедури згідно зі схемою I, внаслідок чого отримали продукт: 1H ЯМР (400МГц, CD_3Cl_3) δ 7,51-6,83 (м, 9H), 3,66-3,40 (м, 2H), 3,08-2,80 (м, 2H), 2,78-2,45 (м, 3H), 2,43-2,28 (м, 2H), 2,08-1,60 (м, 8H); ESIMS m/e : 337,2 [$M+H$]⁺.

Приклад 3

6-оксо-6-феніл-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]гексанаїд: трет-бутил 4-{3-[(6-оксо-6-фенілгексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат зазнав процедури згідно зі схемою I, внаслідок чого отримали продукт: 1H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ 7,98-7,83 (м, 2H), 7,60-7,31 (м, 4H), 7,28-7,12 (м, 2H), 6,97-6,87 (м, 1H), 3,48-3,31 (м, 2H), 3,10-2,68 (м, 5H), 2,40-2,26 (м, 2H), 2,05-1,63 (м, 8H), ESIMS m/e : 365,2 [$M+H$]⁺.

Приклад 4

2-фенокси-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]нікотинаїд: Суміш трет-бутил 4-{3-(аміно)феніл}-1-піперидинкарбоксилату (0,15ммоль), 2-феноксинікотиноїлхлориду

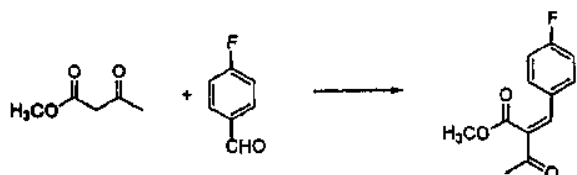


Трет-бутил 4-{3-[(6-(3,4-дифтораніліно)гексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат. 5-мл круглодонну колбу, наповнену трет-бутил-4-{3-[(6-бромгексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилатом (40,9мг, 0,100ммоль), 3,4-дифтораніліном (0,100ммоль, 12,9мг), K_2CO_3 (0,100ммоль, 13,8мг), NaI (22,5мг, 0,150ммоль) та DMF (1,00мл), нагрівали при 120°C протягом 12 годин. Реакцію розвели водою (10мл). Водний шар екстрагували хлороформом (3x10мл) та об'єднані екстракти промили сольовим розчином, висушили над $MgSO_4$ та концентрували в умовах вакууму. Залишок очистили шляхом хроматографії (гексани/EtOAc 10:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт у вигляді світло-жовтої олії (7,14мг, 14,3%). 1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ 7,47 (с, 1H), 7,31-7,18 (м, 1H), 6,98-6,90 (м, 3H), 6,50-6,43 (м, 1H), 6,40-6,30 (м, 2H), 6,26-6,20 (м, 1H), 4,28-4,18 (м, 2H), 3,06 (т, 2H, $J=7,2$ Гц), 2,97-2,87 (м, 1H), 2,84-2,72 (м, 2H), 2,68-2,58 (м, 2H), 2,38 (т, 2H, $J=7,4$ Гц), 1,85-1,73 (м, 4H), 1,7-1,54 (м, 4H), 1,48 (с, 9H) ESMS m/e : 502,2 ($M+H$)⁺.

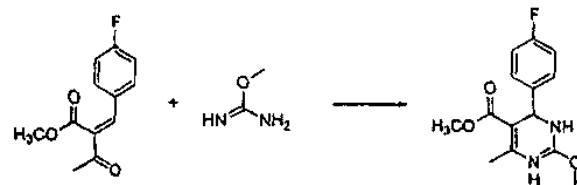
(0,23ммоль) та триетиламіну (0,30ммоль) у 3мл розчинника (CH_2Cl_2 :THF, 1:3) перемішували при кімнатній температурі протягом 12 годин. Реакційну суміш очистили шляхом препаративної тонкошарової хроматографії (ТШХ) (силагель, EtOAc:гексан, 1:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт, трет-бутил 4-(3-[(2-фенокси-3-піридиніл)карбоніл]аміно)феніл)-1-піперидинкарбоксилат. Трифторооцтову кислоту (1,0мл) додали в очищений продукт, розчинений у 1,0мл CH_2Cl_2 та розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 1 хвилини. Реакційну суміш концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали сіль TFA бажаного продукту. ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 9,85 (с, 1H), 8,76-8,64 (ушир, 1H), 8,30-8,14 (ушир, 1H), 7,67 (с, 1H), 7,49 (т, 2H, $J=7,8\text{Гц}$), 7,42-7,29 (м, 3H), 7,24 (т, 3H, $J=5,2\text{Гц}$), 7,03 (д, 1H, $J=7,2\text{Гц}$), 3,59 (ушир д, 2H, $J=11,5$), 3,16-3,02 (м, 2H), 2,9-2,79 (м, 1H), 2,14-2,01 (м, 4H), ESIMS m/e : 374,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Приклад 5

5-(4-метоксифеніл)-N-[3-(4-піперидиніл)феніл]пентанамід: Приготували згідно з процедурою, наведеною на Схемі I

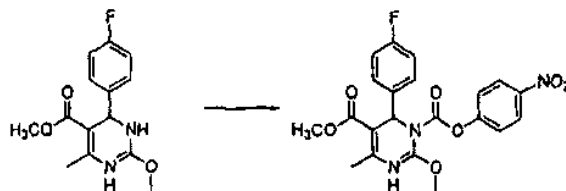


Метил (2Z)-2-ацетил-3-(4-фторфеніл)-2-пропеноат. Суміш 4-фторбензальдегіду (25,5г, 0,220ммоль), метил 3-оксобутаноату (21,80г, 0,220ммоль) та піперидину (1,0мл) у безводному бензолі (250мл) перемішували протягом 10 хвилин при кімнатній температурі з наступним нагріванням при температурі дефлегмації протягом ночі у апараті Dean-Stark. Реакційну суміш потім охолодили до кімнатної температури та розчинник видалили в умовах вакууму, внаслідок чого отримали метил (2Z)-2-ацетил-3-(4-фторфеніл)-2-пропеноат у вигляді чорної твердої речовини (48,6г, 99%), який застосовували на наступному етапі без очищення.

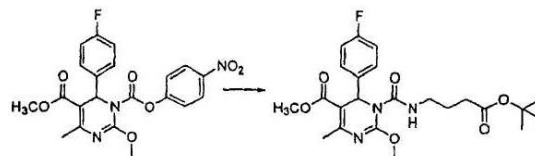


Метил 6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,6-дигідро-5-піримідинкарбоксилат. Суміш метил (2Z)-2-ацетил-3-(4-фторфеніл)-2-пропеноату (0,220ммоль, 48,8г), О-метилізосечовини гідросульфату (53,40г, 0,310ммоль, 1,5екв.), NaHCO_3 (61,74г, 0,74ммоль, 3,5екв.) та етанолу (1,2л) нагрівали при температурі дефлегмації протягом 24 годин, охолодили до кімнатної температури та профільтрували. Тверду речовину промили етанолом (200мл) та об'єднаний фільтрат концентрували в умовах вакууму. Залишок очистили шляхом

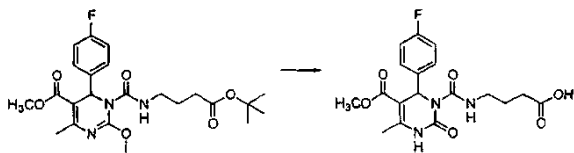
хроматографії (силагель, гексани/EtOAc/ Et_3N 50:50:0,1), внаслідок чого отримали суміш таутомерів (4:1, 33,0г, 53,9%). ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 7,32-7,24 (м, 2H), 7,04-6,95 (м, 2H), 5,81 (с, 1H), 5,38 (д, 1H, $J=2,9\text{Гц}$), 4,00 (с, 3H), 3,63 (с, 3H), 2,34 (с, 3H).



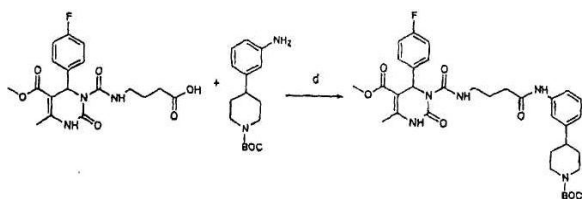
5-метил 1-(4-нітрофеніл)-6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,5(6H)-піримідинкарбоксилат. До розчину метил 6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,6-дигідро-5-піримідинкарбоксилату (1,76г, 6,34ммоль) та 4-диметиламінопіридину (12,7ммоль, 1,55г) у безводному CH_2Cl_2 (20,0мл) додали розчин 4-нітрофенілхлорформіату (4,47г, 22,2ммоль) у CH_2Cl_2 (20,0мл) при 23°C. Реакційну суміш перемішували протягом 2 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш розбавили CH_2Cl_2 (50мл), промили водою, сольовим розчином, висушили над сульфатом натрію та концентрували в умовах вакууму. Залишок очистили шляхом колончастої флеш-хроматографії (гексани/етилацетат 4:1). Продукт отримали у вигляді жовтого сиропу, який після розтирання у порошок гексанами перетворився на білий порошок (2,40г, 84,3%). Сирий продукт застосовували на наступному етапі без подальшого очищення.



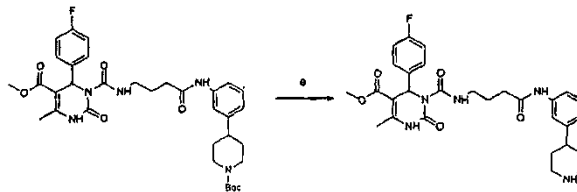
Метил 1-[(4-трет-бутоксид-4-оксобутил)аміно]карбоніл-6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,6-дигідро-5-піримідинкарбоксилат. До розчину 5-метил-1-(4-нітрофеніл) 6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,5(6H)-піримідинкарбоксилату (88,7мг, 0,200ммоль) та K_2CO_3 (41,5мг, 0,300ммоль) у $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,1/2,0мл) додали трет-бутил 4-амінобуаноат (31,8мг, 0,200ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 1 години, суміш промили насиченим Na_2CO_3 та сольовим розчином. Органічний шар висушили над MgSO_4 та концентрували в умовах вакууму. Сирий матеріал очистили шляхом флеш-хроматографії (5%-10% 2M NH_3/MeOH у 50% EtOAc/гексанах), внаслідок чого отримали продукт (92,2г, 99%). Точка плавлення 135-138°C, ^1H ЯМР (CD_3OD) δ 7,29-7,23 (м, 2H), 6,97-6,88 (м, 2H), 6,65 (с, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,66 (с, 3H), 3,38-3,30 (м, 2H), 2,43 (с, 3H), 2,28 (т, 2H, $J=7,2\text{Гц}$), 1,89-1,78 (м, 2H), 1,43 (с, 9H), ESMS m/e : 464,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



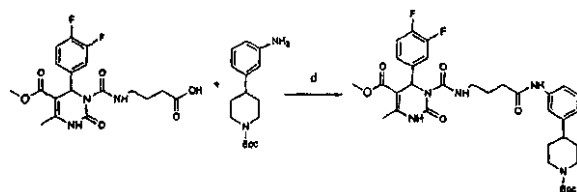
4-[[6-(4-фторфеніл)-5-(метоксикарбоніл)-4-метил-2-оксо-3,6-дигідро-1(2Н)-шримідишл]карбоніл]аміно]бутанова кислота. До розчину метил 1-[[4-яірет-бутокси-4-оксобутил]аміно]карбоніл]-6-(4-фторфеніл)-2-метокси-4-метил-1,6-дигідро-5-піримідинкарбоксилату (77,3мг, 0,166ммоль) у дихлорметані (2,00мл) при 0°С повільно додавали трифторооцтову кислоту (189мг, 1,66ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили у ізо-PrOH/CHCl₃ (1:3, 10мл) та підлучили до рН 11 10% розчином KOH, промили H₂O, потім сольовим розчином. Органічний Шар висушили над MgSO₄ та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали бажаний продукт (58,1мг, 88,9%). ESMS m/e: 394,1 (M+H)⁺.



Метил 3-[[4-{3-[1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-піперидиніл]аніліно}-4-оксобутил]аміно]карбоніл]-4-(4-фторфеніл)-6-метил-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піперидинкарбоксилат. 10-мл круглодонну колбу наповнили 4-[[6-(4-фторфеніл)-5-(метоксикарбоніл)-4-метил-2-оксо-3,6-дигідро-1(2Н)-піримідиніл]карбоніл]аміно]бутановою кислотою (77,0мг, 0,189ммоль), трет-бутил-4-[3-(аміно)феніл]-1-піперидинкарбоксилатом (52,2мг, 0,189ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіміду гідрохлоридом (0,567ммоль, 87,8мг), 4-диметиламінопіридином (11,5мг, 0,0945ммоль) у DMF:DCM (0,2:2,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (10,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували CHCl₃ (3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Залишок піддали хроматографії (сілікагель, гексани: EtOAc 9:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт (40,9мг, 33,2%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,03 (м, 3H), 7,57 (с, 1H), 7,36-7,28 (м, 3H), 7,27-7,22 (м, 1H), 6,97-6,89 (м, 3H), 6,72 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 3,47-3,37 (м, 2H), 2,42 (с, 3H), 2,37-2,29 (м, 2H), 1,98-1,91 (м, 2H), 1,86-1,75 (м, 2H), 1,72-1,54 (м, 7H), 1,48 (с, 9H), ESMS m/e: 652,2 (M+H)⁺.

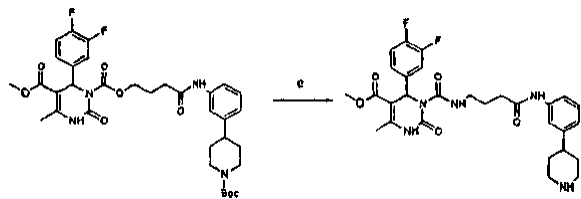


Приклад 7: Метил 4-(4-фторфеніл)-6-метил-2-оксо-3-[[4-оксо-4-[3-(4-піперидиніл)аніліно]бутил]аміно]карбоніл]-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинкарбоксилат. До розчину метил 3-[[4-{3-[1-(трет-бутоксикарбоніл)-4-піперидиніл]аніліно}-4-оксобутил]аміно]карбоніл]-4-(4-фторфеніл)-6-метил-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинкарбоксилату (40,9мг, 0,0628ммоль) у дихлорметані (2,00мл) при 0°С повільно додавали трифторооцтову кислоту (71,6мг, 0,628ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили в (ізо-PrOH/CHCl₃ (1:3, 10мл) та підлучили до рН 11 10% розчином KOH, промили H₂O, а потім сольовим розчином. Органічний шар висушили над MgSO₄ та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали бажаний продукт (34,6мг, 99%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,00 (м, 3H), 7,67 (с, 1H), 7,35-7,27 (м, 4H), 7,04-6,98 (м, 3H), 6,65 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 3,5-3,48 (м, 2H), 3,20-3,11 (м, 3H), 2,42 (т, 2H, J=7,5Гц), 2,36 (с, 3H), 2,13-2,06 (м, 2H), 1,97-1,88 (м, 4H), ESMS t/e: 552,3 (M+H)⁺.



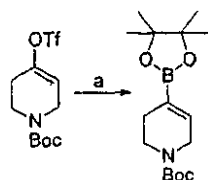
Трет-бутил-4-[3-[[4-[[5-метоксикарбоніл-6-(3,4-дифторфеніл)-4-метил-2-оксо-3,6-дигідро-1(2Н)-піперидиніл]карбоніл]аміно]-бутаноіл]аміно]феніл]піперидинкарбоксилат. 50-мл круглодонну колбу заповнили 4-[[5-ацетил-6-(3,4-дифторфеніл)-4-метил-2-оксо-3,6-дигідро-1(2Н)-піримідиніл]карбоніл]аміно]бутановою кислотою (313мг, 0,854ммоль), трет-бутил-4-[3-(аміно)феніл]-1-піперидинкарбоксилатом (235мг, 0,857ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіміду гідрохлоридом (7,71ммоль, 265мг), 4-диметиламінопіридином (10,4мг, 0,0854ммоль) у DMF:DCM (0,8:8,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (20,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували CHCl₃ (3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Залишок піддали хроматографії (сілікагель, гексани: EtOAc 9:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт (378мг, 67,8%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,03 (м, 2H), 7,57 (с, 1H), 7,36-7,28 (м, 3H), 7,27-7,22 (м, 1H), 6,97-6,89 (м, 3H), 6,72 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 3,47-3,37 (м, 2H), 2,42 (с, 3H), 2,37-2,29 (м, 2H), 1,98-

1,91 (м, 2H), 1,86-1,75 (м, 2H), 1,72-1,54 (м, 7H), 1,48 (с, 9H), ESMS m/e: 554,3 (M-100).



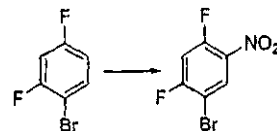
Приклад 8: 5-метоксилкарбоніл-6-(3,4-дифторфеніл)-4-метил-2-оксо-N-(4-оксо-4-[3-(4-піперидинкарбоксамід)-3,6-дигідро-1(2H)-піперидинкарбоксамід. До розчину трет-бутил 4-{3-[(4-{[(5-метоксилкарбоніл-6-(3,4-дифторфеніл)-4-метил-2-оксо-3,6-дигідро-1(2H)-піримідиніл)карбоніл]аміно}-бутаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилату (378мг, 0,579ммоль) у дихлорметані (5,00мл) при 0°C повільно додавали трифторооцтову кислоту (659мг, 5,79ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили в ізо-PrOH/CHCl₃ (1:3, 10мл) та підлужили до pH 11 10% розчином KOH, промили H₂O, потім сольовим розчином. Органічний шар висушили над MgSO₄ та концентрували в умовах вакууму. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії (дихлорметан:метанол 5:1), внаслідок чого отримали бажаний продукт (93,8мг, 29,3%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,46-7,43 (м, 3H), 7,35-7,29 (м, 2H), 7,12-7,06 (м, 3H), 6,63-6,60 (м, 1H), 6,56-6,52 (м, 2H), 3,26 (с, 3H), 3,22 (с, 3H), 2,72 (дт, 6H, J=2,3, 12,3Гц), 2,66 (тт, 2H, J=3,6, 11,9Гц), 2,55 (тт, 1H, J=3,8, 11,9Гц), 1,88-1,82 (м, 1H), 1,75-1,63 (м, 6H), ESMS m/e: 554,3 (M+H)⁺.

Загальна процедура синтезу піперидину (схема 2)

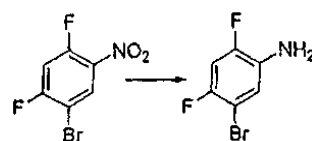


Трет-бутил 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат : У 50-мл круглодонну колбу, наповнену біс(пінаколато)дигідром (422мг, 1,66ммоль), KOAc (444мг, 4,53ммоль), PdCl₂dppf (37,0мг, 3,00мол %) та dppf (25,0мг, 3,00мол%), додали розчин трет-бутил 4-{[(трифторметил)сульфоніл]окси}-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилату (500мг, 1,51ммоль) у 1,4-діоксані (10,0мл) при кімнатній температурі в атмосфері аргону. Суміш нагрівали при 80°C протягом ночі. Після охолодження до кімнатної температури суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc (3x20мл). Об'єднані фільтрати промили H₂O та сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc:гексани 1:9), внаслідок чого одержали трет-бутил 4-(4,4,5,5-

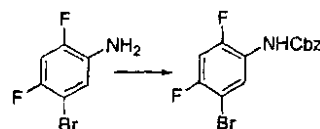
тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат (355мг, 76%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 6,60-6,34 (ушир, 1H), 4,06-3,86 (ушир, 2H), 3,55-3,34 (ушир, 2H), 2,35-2,09 (ушир, 2H), 1,46 (с, 9H), 1,26 (с, 12H), ESMS m/e: 310,4 (M+H)⁺.



5-бром-2,4-дифторнітробензол. До суспензії 1-бром-2,4-дифторбензолу (53,0ммоль, 6,00мл) у концентрованій H₂SO₄ (38,5мл) при 0°C додавали краплями концентровану HNO₃ (34,0мл), підтримуючи внутрішню температуру нижче 20°C. Одержану суміш перемішували протягом 10 хвилин при 0°C, потім вилили у лід/воду, при цьому сильно перемішуючи. Суміш екстрагували Et₂O (3x100мл). Об'єднані органічні екстракти промили водним розчином NaHCO₃ (3x100мл) та сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc:гексани 1:9), внаслідок чого отримали 5-бром-2,4-дифторнітробензол у вигляді жовтої олії (12,2г, 97%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,45 (т, 1H, J=7,5Гц), 7,16 (дд, 1H, J=11,0, 8,6Гц), ESMS m/e: 240, 238, 223, 221, 112.

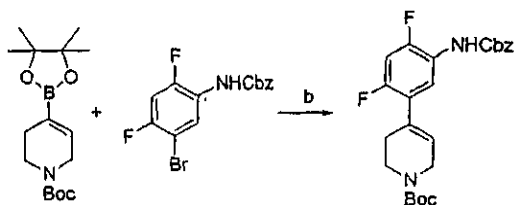


5-бром-2,4-дифторанілін. 250-мл круглодонну колбу, наповнену 5-бром-2,4-дифторнітробензолом (5,04г, 21,3ммоль), насиченим NH₄Cl (25,0мл), порошком заліза (5,00г, 89,5ммоль), етанолом (100мл), THF (50,0мл) та водою (25,0мл), нагрівали у колбі зі зворотним холодильником при 95°C протягом 1,5 години. Після охолодження до кімнатної температури додали насичений NaHCO₃ (100мл) та суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc (3x50 мл). Об'єднані фільтрати промили H₂O та сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc:гексани 1:9), внаслідок чого отримали 5-бром-2,4-дифторанілін (2,61г, 59,1%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 6,97 (дд, 1H, J=7,2, 6,7Гц), 6,85 (т, 1H, J=8,2Гц), 3,63 (ушир, 2H).

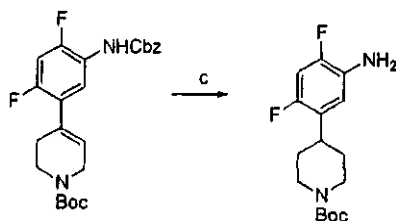


Бензил 5-бром-2,4-дифторфенілкарбамат. До 250-мл круглодонної колби додали 5-бром-2,4-дифторанілін (5,00г, 24,2ммоль), хлорбензилфор-

міат (4,10мл, 29,0ммоль), NaHCO_3 (6,10г, 72,6ммоль) та ацетонітрил (100мл). Реакційну суміш перемішували при 25°C протягом 12 годин, потім профільтрували крізь крупно спечене скло, фриттовану лійку, промили EtOAc (3x20мл) та концентрували в умовах вакууму. Фільтрат промили H_2O та сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc:гексани 1:9), внаслідок чого отримали бензил 5-бром-2,4-дифторфенілкарбамат (5,05г, 61,0%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 8,38 (с, 1H), 7,49-7,31 (м, 5H), 6,94-6,89 (м, 1H), 6,81-6,77 (м, 1H), 5,22 (с, 2H), ESMS m/e: 340,1 ($\text{M}-\text{H}^+$).

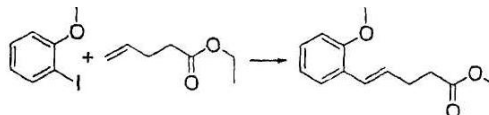


Трет-бутил 4-5-[[бензілокси]карбоніл]аміно-2,4-дифторфеніл-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат. До 250-мл круглодонної колби, що містила трет-бутил 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат (4,58г, 14,8ммоль), K_2CO_3 (6,14г, 44,4ммоль) та PdChdppf (1,48ммоль, 1,21г), додали розчин бензил 5-бром-2,4-дифторфенілкарбамату (5,05, 14,8ммоль) у DMF (150мл) при кімнатній температурі в атмосфері аргону. Суміш нагрівали до 80°C в атмосфері аргону протягом ночі. Після охолодження до кімнатної температури суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc (3x100мл). Фільтрати промили H_2O (3x200мл), сольовим розчином (100мл), висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий матеріал очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc/гексани 1:9), внаслідок чого отримали трет-бутил 4-5-[[бензілокси]карбоніл]аміно-2,4-дифторфеніл-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат (1,60г, 24,5%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 8,08 (с, 1H), 7,45-7,35 (м, 5H), 6,85-6,70 (м, 1H), 5,95-5,85 (м, 1H), 5,20 (с, 2H), 4,05 (м, 2H), 3,6-3,5 (м, 2H), 2,5-2,4 (м, 2H), 1,50 (с, 9H), ESMS m/e: 443,3 ($\text{M}-\text{H}^+$).

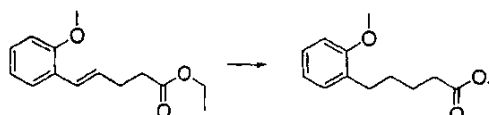


Трет-бутил 4-5-аміно-2,4-дифторфеніл-1-піридинкарбоксилат. Суміш трет-бутил 4-5-[[бензілокси]карбоніл]аміно-2,4-дифторфеніл-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилату (1,60г, 3,60ммоль) та 5% Pd/C (320мг, 0,100ммоль) в ети-

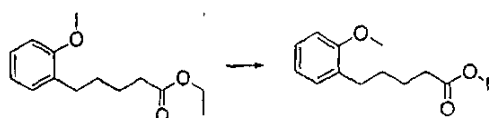
лацетаті (25,0мл) та метанолі (25,0мл) гідрували при кімнатній температурі протягом 72 годин, застосовуючи водневу бомбу (200 фунтів на квадратний дюйм). Реакційну суміш профільтрували крізь Celite та промили EtOAc/MeOH (1:1, 3x50мл). Фільтрат концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали трет-бутил 4-5-аміно-2,4-дифторфеніл-1-піридинкарбоксилат (1,39г, 100%). ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 6,73 (т, 1H, $J=10,6\text{Гц}$), 6,60-6,54 (дд, 1H, $J=7,6$, 6,57Гц), 4,20 (ушир, 2H), 3,55 (с, 2H), 2,96-2,72 (м, 3H), 1,79-1,71 (м, 2H), 1,58-1,52 (м, 2H), 1,47 (с, 9H), ESMS m/e: 257,3 ($\text{M}-56$).



Етил (4E)-5-(2-метоксифеніл)-4-пентеноат. До 200-мл круглодонної колби додали 2-йодоанізол (5,00г, 21,4ммоль), етил 4-пентеноат (3,30г, 25,6ммоль), тетракістрифенілфосфінпаладій(0) (0,740г, 0,600ммоль), триетиламін (6,00мл, 42,7ммоль) та суміш CH_3CN (45,0мл) та THF (15,0мл). Реакційну суміш нагрівали при температурі дефлегмації протягом ночі та потім охолодили до кімнатної температури. Після того, як видалили розчинники в умовах вакууму, одержаний темно-коричневий залишок розчинили у 5% HCl (водн.) та екстрагували CH_2Cl_2 тричі. Об'єднані екстракти промили насиченим розчином NaHCO_3 , висушили над MgSO_4 , концентрували в умовах вакууму. Темно-коричневу олію очистили шляхом хроматографії (силікагель, EtOAc/Гексани 1:10), внаслідок чого отримали продукт у вигляді світло-жовтої олії (3,40г, 68%).

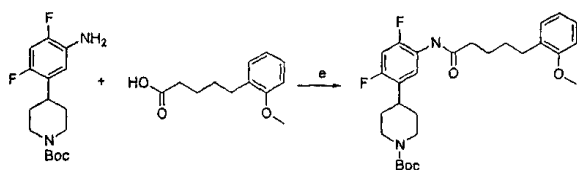


Етил 5-(2-метоксифеніл)пентаноат. До розчину етил (4E)-5-(2-метоксифеніл)-4-пентеноату (3,40г, 14,5ммоль) у суміші EtOAc та MeOH (40,0/10,0мл) додавали дрібними порціями Pd/C (паладій на вуглецю 10%, 0,700г), щоб запобігти спалахуванню. Реакційну суміш потім перемішували протягом ночі при кімнатній температурі під тиском 300 фунтів на кв. дюйм в атмосфері водню. Після зняття тиску суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc (3x50мл). Фільтрат концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали сирий продукт у вигляді світло-жовтої олії (3,40г, 100%), який потім застосовували без подальшого очищення.

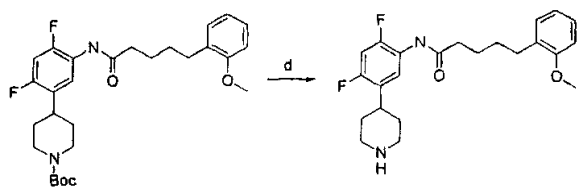


5-(2-метоксифеніл)пентанова кислота. 250-мл круглодонну колбу наповнили етил 5-(2-

метоксибеніл)пентаноатом (3,40г, 14,5ммоль), NaOH (1,74г, 42,8ммоль), тетрагідрофураном (25,0мл) та водою (25,0мл). Реакційну суміш нагрівали при температурі дефлегмації протягом 2 годин та охолодили до кімнатної температури. Реакційну суміш концентрували в умовах вакууму та одержаний водний розчин підкислили 6М HCl до pH<5. Кислу суміш екстрагували хлороформом/ізопропіловим спиртом (3:1, 3x50мл) та об'єднані органічні фази промили сольовим розчином, висушили над Na₂SO₄ та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали продукт у вигляді білої твердої речовини (2,68г, 90%), який потім застосовували без подальшого очищення. ¹H ЯМР (400МГц, MeOD) δ 7,23-7,03 (м, 2H), 6,95-6,76 (м, 2H), 3,81 (с, 3H), 2,63 (т, 2H, J=7,2Гц), 2,38 (т, 2H, J=7,2Гц), 1,77-1,53 (м, 4H).



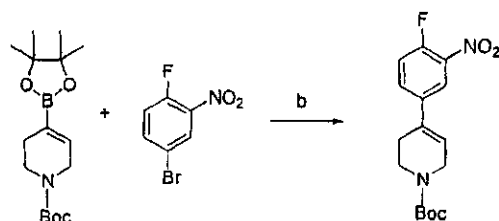
Трет-бутил-4-(2,4-дифтор-5-[[5-(2-метоксибеніл)пентаноїл]-аміно]беніл)-1-піперидинкарбоксилат. 15-мл круглодонну колбу наповнили 5-(2-метоксибеніл)пентаною кислотою (69,0мг, 0,810ммоль), трет-бутил 4-(5-аміно-2,4-дифторбеніл)-1-піперидинкарбоксилатом (229мг, 0,740ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодиміду гідрохлоридом (2,22ммоль, 426мг), 4-диметиламінопіридином (9мг, 0,07ммоль) у DMF:DCM (0,2:5,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (10,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар відокремили та водний шар екстрагували CHCl₃ (3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали трет-бутил 4-(2,4-дифтор-5-[[5-(2-метоксибеніл)пентаноїл]аміно]беніл)-1-піперидинкарбоксилат (310мг, 83,2%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,36-8,13 (м, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,26-7,06 (м, 1H), 7,06-6,92 (м, 1H), 6,92-6,75 (м, 3H), 4,41-4,02 (м, 2H), 3,80 (с, 3H), 2,90-2,70 (м, 2H), 2,70-2,63 (м, 2H), 2,63-2,51 (м, 1H), 2,49-2,32 (м, 2H), 1,87-1,72 (м, 4H), 1,72-1,63 (м, 2H), 1,63-1,52 (м, 2H), 1,48 (с, 9H).



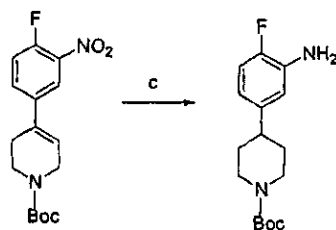
Приклад 11: N-[2,4-дифтор-5-(4-піперидиніл)беніл]-5-(2-метоксибеніл)пентанамід. До розчину трет-бутил 4-(2,4-дифтор-5-[[5-(2-метоксибеніл)пентаноїл]аміно]беніл)-1-піперидинкарбоксилату (310мг, 0,620ммоль) у дихлорметані (5,00мл) при 0°C повільно додавали

трифторооцтову кислоту (707мг, 6,20мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили у i-PrOH/CHCl₃ (1:3, 10мл) та підлужили до pH 11 10% розчином KOH, промили H₂O, а потім сольовим розчином. Органічний шар виділили, висушили над MgSO₄ та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали бажаний продукт (108мг, 43,3%). ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,59 (т, 1H, J=8,2Гц), 7,10-6,96 (м, 2H), 6,90-6,68 (м, 3H), 3,67 (с, 3H), 3,09 (д, 2H, J=12,4Гц), 2,89 (тт, 1H, J=11,8Гц), 2,69 (дт, 2H, J=2,6, 12,4Гц), 2,54 (т, 2H, J=7,2Гц), 2,33 (т, 2H, J=7,2Гц), 1,76-1,48 (м, 8H), ESMS m/e: 403,3 (M+H)⁺.

Загальна процедура синтезу піперидину (схема 3)



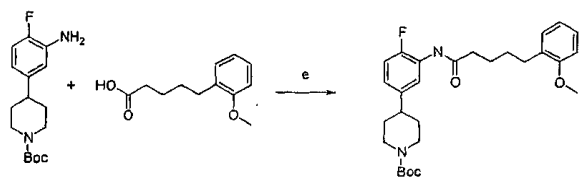
Трет-бутил 4-(4-фтор-3-нітробеніл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат. До 150-мл круглодонної колби, що містила трет-бутил 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат (5,58г, 16,5ммоль), K₂CO₃ (5,60г, 40,5ммоль) та PdChdppf (1,48ммоль, 1,21г), додали розчин 4-бром-1-фтор-2-нітробензолу (3,30г, 15,0ммоль) у DMF (50,0мл) при кімнатній температурі в атмосфері аргону. Суміш нагрівали до 80°C в атмосфері аргону протягом 12 годин. Після охолодження до кімнатної температури суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc (3x100мл). Фільтрати промили H₂O (3x200мл), сольовим розчином (100мл), висушили над MgSO₄, профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії (EtOAc/гексани 1:9), внаслідок чого отримали трет-бутил 4-(4-фтор-3-нітробеніл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилат (3,13г, 65,1%): ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 8,06-7,89 (м, 1H), 7,66-7,49 (м, 1H), 7,30-7,10 (м, 1H), 6,19-5,95 (ушир, 1H), 4,10-3,95 (м, 2H), 3,58 (т, 2H, J=5,6Гц), 2,49-2,34 (м, 2H), 1,42 (с, 9H).



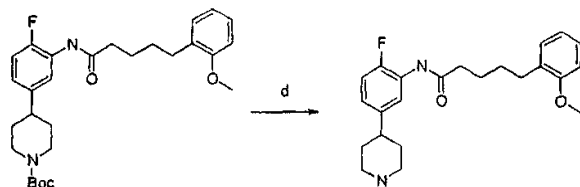
Трет-бутил-4-(3-аміно-4-фторбеніл)-1-піперидинкарбоксилат.

Суміш трет-бутил 4-(4-фтор-3-нітробеніл)-3,6-дигідро-1(2H)-піридинкарбоксилату (2,35г, 8,85ммоль) та 10% Pd/C (400мг) в етилацетаті

(40,0мл) та метанолі (10,0мл) гідрували при кімнатній температурі протягом 72 годин, застосовуючи водневу бомбу (200 фунтів на квадратний дюйм). Реакційну суміш профільтрували крізь Celite та Celite промили EtOAc/MeOH (1:1, 3х50мл). Фільтрат концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали трет-бутил-4-(3-аміно-4-фторфеніл)-1-піперидинкарбоксилат (2,10г, 98,0%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 6,96-6,76 (м, 1H), 6,67-6,54 (м, 1H), 6,54-6,40 (м, 1H), 4,38-4,09 (ушир, 2H), 4,09-3,58 (ушир, 2H), 2,87-2,62 (м, 2H), 2,60-2,39 (м, 1H), 1,85-1,65 (м, 2H), 1,64-1,40 (м, 2H), 1,48 (с, 9H).

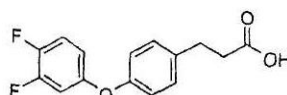


Трет-бутил 4-(4-фтор-3-[[5-(2-метоксифеніл)пентаноїл]-аміно]феніл)-1-піперидинкарбоксилат: 25-мл круглодонну колбу наповнили 5-(2-метоксифеніл)пентановою кислотою (53,0мг, 0,250ммоль), трет-бутил-4-(3-аміно-4-фторфеніл)-1-піперидинкарбоксилатом (59,0мг, 0,200ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіміду гідрохлоридом (0,400ммоль, 62,0мг), 4-диметиламінопіридином (10мг) у DMF:DCM (0,2:2,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (10,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували CHCl_3 (3х10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий залишок очистили шляхом хроматографії (сілікагель, гексани:EtOAc 6:1), внаслідок чого отримали трет-бутил 4-(4-фтор-3-[[5-(2-метоксифеніл)пентаноїл]аміно]феніл)-1-піперидинкарбоксилат (48,4мг, 50,0%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 8,36-8,13 (м, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,26-7,06 (м, 2H), 7,06-6,92 (м, 1H), 6,92-6,75 (м, 3H), 4,41-4,02 (м, 2H), 3,80 (с, 3H), 2,90-2,70 (м, 2H), 2,70-2,63 (м, 2H), 2,63-2,51 (м, 1H), 2,49-2,32 (м, 2H), 1,87-1,72 (м, 4H), 1,72-1,63 (м, 2H), 1,63-1,52 (м, 2H), 1,48 (с, 9H).

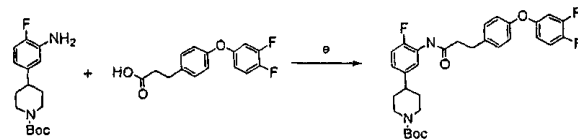


Приклад 10: N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]-5-(2-метоксифеніл)пентанамід. До розчину трет-бутил 4-(4-фтор-3-[[5-(2-метоксифеніл)пентаноїл]аміно]феніл)-1-піперидинкарбоксилату (48,4мг, 0,100ммоль) у CH_2Cl_2 (2,0мл) додали трифторооцтову кислоту (114мг, 1,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 30 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчи-

нили у $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (3:1, 10мл) та підлучили до pH 11 5% розчином KOH. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували $\text{CHCl}_3/\text{i-PrOH}$ (3:1, 3х10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]-5-(2-метоксифеніл)пентанамід (38,0мг, 95%): ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ 8,30-8,12 (м, 1H), 7,64-7,41 (м, 1H), 7,24-7,07 (м, 2H), 7,06-6,92 (м, 1H), 6,92-6,74 (м, 3H), 3,80 (с, 3H), 3,25-3,06 (м, 2H), 2,80-2,49 (м, 5H), 2,48-2,24 (м, 3H), 1,89-1,71 (м, 4H), 1,71-1,46 (м, 4H), ESMS m/e: 385,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

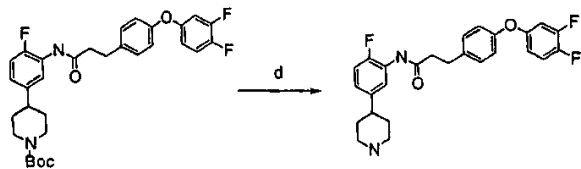


3-[4-(3,4-дифторфеноксифеніл)пропанова кислота. До 50-мл круглодонної колби додали 3-(4-гідроксифеніл)пропіонову кислоту (1,66г, 10,0ммоль), 3,4-дифторйодбензол (2,40г, 10,0ммоль), бромід міді(І) (0,100г), карбонат калію (2,76г, 20,0ммоль) та n-метил-2-піролідон (20мл) як розчинник. Суміш перемішували протягом 5 хвилин при кімнатній температурі, а потім нагрівали до 140°C (олійна баня). Після перемішування протягом 12 годин при 140°C реакційну суміш охолодили до кімнатної температури та розбавили EtOAc (100мл). Розведену суміш промили лимонною кислотою (водн., 30мл), водою (3х50мл), сольовим розчином та висушили над MgSO_4 . Внаслідок видалення розчинника в умовах вакууму отримали сирий продукт, який очистили шляхом хроматографії (0,901г, 32%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 11,44-11,06 (ушир, 1H), 7,24-7,14 (м, 2H), 7,14-7,00 (м, 1H), 7,00-6,86 (м, 2H), 6,86-6,75 (м, 1H), 6,75-6,61 (м, 1H), 2,94 (т, 2H, $J=7,6\text{Гц}$), 2,68 (т, 2H, $J=7,6\text{Гц}$), ESMS m/e: 277,2 ($\text{M}-\text{H}^+$).

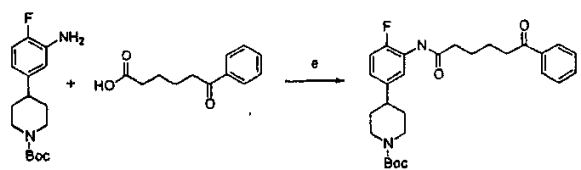


Трет-бутил-4-[3-((3-[4-(3,4-дифторфеноксифеніл)пропаноїл]-аміно)-4-фторфеніл)-1-піперидинкарбоксилат. 25-мл круглодонну колбу наповнили 3-[4-(3,4-дифторфеноксифеніл)пропановою кислотою (180мг, 0,650ммоль), трет-бутил-4-(3-аміно-4-фторфеніл)-1-піперидинкарбоксилатом (180мг, 0,610ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіміду гідрохлоридом (1,22ммоль, 190мг), 4-диметиламінопіридином (20мг) у DMF:DCM (0,4:4,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (10,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували CHCl_3 (3х10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий залишок очистили шляхом

хроматографії (силікагель, гексани:EtOAc 6:1), внаслідок чого отримали трет-бутил 4-{3-[(3,4-дифторфенокси)феніл]пропанойл}аміно-4-фторфеніл-1-піперидинкарбоксилат (85,0мг, 25,0%): ^1H ЯМР (400МГц, CHCl_3) δ 8,32-8,15 (м, 1H), 7,47-6,45 (м, 10H), 4,41-4,07 (ушир, 2H), 3,17-2,96 (м, 2H), 2,90-2,67 (м, 4H), 2,67-2,56 (м, 1H), 1,91-1,69 (м, 2H), 1,68-1,48 (м, 2H), 1,47 (с, 9H), ESMS m/e 553,3 (M-H^+).

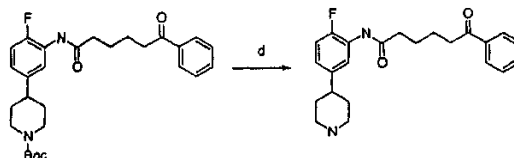


Приклад 12: 3-[4-(3,4-дифторфенокси)феніл]-N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]пропанамід. До розчину трет-бутил 4-{3-[(3,4-дифторфенокси)феніл]пропанойл}аміно-4-фторфеніл-1-піперидинкарбоксилату (85,0мг, 0,150ммоль) у CH_2Cl_2 (2,0мл) додали трифторооцтову кислоту (170мг, 1,50ммоль) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 10 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили в $\text{CHCl}_3/i\text{-PrOH}$ (3:1, 10мл) та підлужили до pH 11 5% розчином KOH. Органічний шар екстрагували та водний шар екстрагували $\text{CHCl}_3/i\text{-PrOH}$ (3:1, 3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали 3-[4-(3,4-дифторфенокси)феніл]-N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]пропанамід (65,0мг, 92%): ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ 8,27-8,12 (м, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,33-7,17 (м, 2H), 7,17-7,06 (м, 1H), 7,06-6,97 (м, 1H), 6,97-6,87 (м, 3H), 6,86-6,74 (м, 1H), 6,74-6,62 (м, 1H), 6,15-5,63 (ушир, 1H), 3,55-3,31 (м, 2H), 3,15-2,97 (м, 2H), 2,97-2,79 (м, 2H), 2,79-2,59 (м, 3H), 2,05-1,79 (м, 4H), ESMS m/e : 455,2 (M+H^+).



Трет-бутил 4-{4-фтор-3-[(6-оксо-6-фенілгексаноїл)аміно]-феніл}-піперидинкарбоксилат. 25-мл круглодонну колбу наповнили 6-оксо-6-фенілгексановою кислотою (51,0мг, 0,250ммоль), трет-бутил-4-(3-аміно-4-фторфеніл)-1-піперидинкарбоксилатом (59,0мг, 0,200ммоль), 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіміду гідрохлоридом (0,400ммоль, 62,0мг), 4-диметиламінопіридином (10мг) у DMF:DCM (0,2:2,0мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 12 годин та додали воду (10,0мл) до реакційної суміші. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували CHCl_3 (3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму. Сирий залишок очистили шляхом

хроматографії (силікагель, гексани:EtOAc 6:1), внаслідок чого отримали трет-бутил 4-{4-фтор-3-[(6-оксо-6-фенілгексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилат (49,0мг, 51,0%): ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 8,30-8,14 (м, 1H), 8,04-7,89 (м, 2H), 7,62-7,50 (м, 1H), 7,50-7,37 (м, 3H), 7,09-6,93 (м, 1H), 6,93-6,76 (м, 1H), 4,38-4,01 (ушир, 2H), 3,13-2,95 (м, 2H), 2,89-2,69 (м, 2H), 2,65-2,54 (м, 1H), 2,54-2,35 (м, 2H), 1,95-1,74 (м, 6H), 1,69-1,48 (м, 2H), 1,47 (с, 9H).



ПРИКЛАД 9: N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]-6-оксо-6-фенілгексанамід. До розчину трет-бутил 4-{4-фтор-3-[(6-оксо-6-фенілгексаноїл)аміно]феніл}-1-піперидинкарбоксилату (49,0мг, 0,101ммоль) у CH_2Cl_2 (3,0мл) додали трифторооцтову кислоту (114мг, 1,01ммоль) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 30 хвилин та концентрували в умовах вакууму. Залишок розчинили у $\text{CHCl}_3/i\text{-PrOH}$ (3:1, 10мл) та підлужували до pH 11 5% розчином KOH. Органічний шар видалили та водний шар екстрагували $\text{CHCl}_3/i\text{-PrOH}$ (3:1, 3x10мл). Об'єднані органічні екстракти промили сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , профільтрували та концентрували в умовах вакууму, внаслідок чого отримали N-[2-фтор-5-(4-піперидиніл)феніл]-6-оксо-6-фенілгексанамід (35,5мг, 86,0%). Сіль HCl: ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 8,14-8,01 (ушир, 1H), 8,01-7,89 (м, 2H), 7,65-7,52 (м, 1H), 7,52-7,43 (м, 2H), 7,43-7,26 (ушир, 1H), 7,13-7,00 (м, 1H), 7,00-6,88 (ушир, 1H), 3,68-3,43 (м, 2H), 3,19-2,92 (ушир, 4H), 2,89-2,67 (м, 1H), 2,61-2,36 (ушир, 2H), 2,26-2,06 (м, 2H), 2,06-1,93 (м, 2H), 1,93-1,71 (ушир, 4H), ESMS m/e : 383,2 (M+H^+).

II. Способи синтезу загальних структур

Приклади, описані у Розділі I, лише ілюструють способи, що застосовуються для синтезу антагоністів MCH1. Подальші похідні можна одержати, застосовуючи загальні способи, які засновані на способах синтезу, що застосовуються для синтезу зразків сполук.

Може бути необхідним застосувати стратегії введення та зняття захисту для замісників, таких як аміногрупи, амідогрупи, груп карбонових кислот та гідроксильні групи, в узагальнених способах синтезу з метою утворення подальших похідних. Способи введення та зняття захисту таких груп є добре відомими у галузі, та їх опис можна знайти, наприклад, у [Green, T. W. and Wuts, P.G.M. (1991) Protection Groups in Organic Synthesis, 2nd Edition John Wiley & Sons, New York].

III. Композиції для перорального введення

Як конкретний варіант здійснення композиції для перорального введення сполуки цього винаходу, змішували 100мг однієї зі сполук, описаних

тут, з достатньо тонкоподрібненою лактозою з одержанням загальної кількості у 580-590мг для наповнення О-подібної капсули з твердого гелю.

IV. Фармакологічне оцінювання сполук на клоніваному рецепторі MCH1 шурів

Фармакологічні властивості сполук цього ви-находу оцінювали на клоніваних рецепторах MCH1 шурів, застосовуючи процедури, описані нижче.

Клітини-хазяїни

Широку різноманітність клітин-хазяїнів можна застосовувати для дослідження гетерологічної експресії білків. Ці клітини включають, проте не обмежуються лише ними, систематизовані лінії ссавців, такі як: Cos-7, CHO, LM (tk-), HEK293, Peak rapid 293 тощо, клітинні лінії комах, такі як: Sf9, Sf21 тощо, клітинні лінії земноводних, такі як овоцити жаби *Xenopus*, тощо.

Клітини COS 7 вирощують у чашках розміром 150мм у модифікованому за способом Дульбеко середовищі Ігла (DMEM) з додатками (10% фетальної бичачої сироватки, 4мМ глутаміну, 100одиницями/мл пеніциліну/100 Fg/мл стрептоміцину) при 37°C, 5% CO₂. Чашки з культурою клітин COS-7 обробляють трипсином та розщеплюють 1:6 кожні 3-4 дні.

Ниркові ембріональні клітини 293 людини вирощують у чашках розміром 150мм у DMEM з добавками (10% телячої сироватки, 4мМ глутаміну, 100 одиницями/мл пеніциліну/100 Fg/мл стрептоміцину) при 37°C, 5% CO₂. Чашки з культурою клітин 293 обробляють трипсином та розщеплюють 1:6 кожні 3-4 дні.

Ниркові ембріональні клітини людини Peak rapid 293 (Peakr293) вирощують у чашках розміром 150мм у DMEM з добавками (10% фетальної бичачої сироватки, 10% L-глутаміну, 50 Fg/мл гентаміцину) при 37°C, 5% CO₂. Чашки з культурою клітин Peak rapid 293 обробляють трипсином та розщеплюють 1:12 кожні 3-4 дні.

Фібробласти LM (tk-) мишей вирощують у чашках розміром 150мм у DMEM з добавками (10% фетальної бичачої сироватки, 4мМ глутаміну, 100 одиницями/мл пеніциліну/100 Fg/мл стрептоміцину) при 37°C, 5% CO₂. Чашки з культурою клітин LM (tk-) обробляють трипсином та розщеплюють 1:10 кожні 3-4 дні.

Клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO) вирощують у чашках розміром 150мм у середовищі HAM's F-12 з добавками (10% фетальної бичачої сироватки, 4мМ L-глутаміну та 100 одиницями/мл пеніциліну/100 Fg/мл стрептоміцину) при 37°C 5% CO₂. Чашки з культурою клітин CHO обробляють трипсином та розщеплюють 1:8 кожні 3-4 дні.

Ембріональні фібробласти NIH-3T3 мишей вирощують у чашках розміром 150мм у DMEM з добавками (10% фетальної бичачої сироватки, 4мМ глутаміну, 100 одиницями/мл пеніциліну/100 Fg/мл стрептоміцину) при 37°C, 5% CO₂. Чашки з культурою клітин NIH-3T3 обробляють трипсином та розщеплюють 1:15 кожні 3-4 дні.

Клітини Sf9 та Sf21 вирощують у моношарах на 150мм чашках для тканинної культури у середовищі TMN-FH з добавкою 10% фетальної бичачої сироватки при 27°C без CO₂. Клітини комах

High Five вирощують на 150мм чашках для тканинної культури у середовищі Ex-Cell 400™ з добавкою L-глутаміну також при 27°C без CO₂.

У деяких випадках клітинні лінії, що вирощували як прилипли моношари, можуть бути перетворені на суспензійну культуру для збільшення виходу клітин та одержання великих партій однорідного матеріалу для аналізу з метою здійснення звичайних програм скринінгу рецепторів.

Тимчасова експресія

ДНК-кодуювальні білки, що слід досліджувати, можна тимчасово експресувати у різноманітних клітинних лініях ссавців, комах, земноводних та інших тварин декількома способами, включаючи, проте не обмежуючись ними, опосередковану фосфатом кальцію доставку, опосередковану DEAE (діетиламіноетил)-декстраном доставку, опосередковану ліпосомами доставку, опосередковану вірусом доставку, опосередковану електропорацією доставку та доставку шляхом мікроін'єкції. Кожен з цих способів може потребувати оптимізації згрупованих експериментальних параметрів залежно від ДНК, клітинної лінії та типу аналізу, який слід застосовувати у подальшому.

Далі описаний звичайний протокол способу із застосуванням фосфату кальцію, який застосовується до клітин Peak rapid 293.

Прилипли клітини збирали приблизно за 24 години до трансфекції та переносили з щільністю 3.5×10^6 клітин/чашку у чашці розміром 150мм для тканинної культури та залишали інкубуватися протягом ночі при 37°C при 5% CO₂. До пластикової пробірки об'ємом 5 мл додавали 250 F1 суміші CaCl₂ та ДНК (15 Fg ДНК у 250мМ CaCl₂) та повільно додавали, злегка перемішуючи, 500 F12X HBS (280мМ NaCl, 10мМ KCl, 1,5мМ Na₂HPO₄, 12мМ декстрази, 50мМ HEPES (M-2-гідроксietилпіперазин-N'-2-етансульфонової кислоти)). Суміш залишали інкубуватися протягом 20 хвилин при кімнатній температурі, щоб дозволити ДНК осадитися, щоб сформуватися. Суміш осаду ДНК потім додавали до культурального середовища у кожній чашці та інкубували протягом 5 годин при 37°C, 5% CO₂. Після інкубування до кожної чашки додавали 5мл культурального середовища (DMEM, 10% FBS (фетальної бичачої сироватки), 10% L-глутаміну та 50мкг/мл гентаміцину). Клітини потім інкубували протягом 24-48 годин при 37°C, 5% CO₂.

Далі описаний звичайний протокол способу із застосуванням DEAE-декстрану у відношенні клітин Cos-7. Клітини, які слід застосовувати для трансфекції, розщеплювали за 24 години до трансфекції з одержанням 70-80% конфлюєнта у колбі на час проведення трансфекції. Стисло, 8 Fg рецепторної ДНК та 8 Fg будь-якої додаткової ДНК, що є необхідною (наприклад, вектор експресії білка G₂, конструкт-репортер, маркер стійкості до антибіотика, моск-вектор тощо), додавали до 9мл суміші повної DMEM та DEAE-декстрану (10мг/мл у фізіологічному розчині з фосфатним буфером (PBS)). Клітини Cos-7, розташовані у колбі T225 (субконфлюент), промивали один раз PBS, та суміш ДНК додавали у кожен колбу. Клітини залишали інкубуватися протягом 30 хвилин при 37°C, 5% CO₂. Після інкубування 36мл повного DMEM з 80

FM хлорохіну додавали у кожен колбу та залишали інкубуватися протягом додаткових 3 годин. Середовище потім відсмоктували та 24мл повного середовища, що містить 10% диметилсульфоксиду (DMSO), додавали протягом точно 2 хвилин, а потім відсмоктували. Клітини потім двічі промивали PBS та 30мл повного DMEM додавали у кожен колбу. Клітини потім залишали інкубуватися протягом ночі. Наступного дня клітини збирали шляхом трипсинізації та пересівали за необхідністю залежно від типу аналізу, який слід було виконувати.

Далі описаний звичайний протокол опосередкованої ліпосомами трансфекції, що застосовується до клітин CHO. Клітини, які слід застосовувати для трансфекції, розщеплювали за 24 години до трансфекції з одержанням 70-80% конфлюєнта у колбі на час проведення трансфекції. Взагалі 10 Fg ДНК, яка може включати змінні співвідношення рецепторної ДНК та будь-якої додаткової ДНК, яка є необхідною (наприклад, вектор експресії білка G₂, конструкт-репортер, маркер стійкості до антибіотика, моск-вектор тощо), застосовували з метою трансфекції кожної 75см² колби, що містить клітини. Опосередковану ліпосомами трансфекцію здійснювали згідно з рекомендаціями виробника (LipofectAMINE, GibcoBRL, Bethesda, MD). Трансфектовані клітини збирали через 24 години після трансфекції та застосовували їх або пересівали згідно з вимогами аналізу, який слід було застосовувати.

Далі описаний звичайний протокол способу електропорації, який застосовується до клітин Cos-7. Клітини, які слід застосовувати для трансфекції, розщеплювали за 24 години до трансфекції з одержанням субконфлюєнта у колбах під час трансфекції. Клітини збирали трипсинізацією, знов суспендували у тому ж середовищі та підраховували. 4x10⁶ клітин суспендували у 300 F1 DMEM та розташовували у кюветці для електропорації. 8 Fg рецепторної ДНК та 8 Fg будь-якої додаткової ДНК, що потребується (наприклад, вектор експресії білка G₂, конструкт-репортер, маркер стійкості до антибіотика, моск-вектор тощо), додавали до клітинної суспензії, кювету розташовували у імпульсному генераторі BioRad Gene Pulser, де вона зазнавала впливу електричних імпульсів (характеристики Gene Pulser: напруга 0,25кВ, потужність - 950 FF). Після впливу імпульсу 800 F1 повного DMEM додавали до кожної кюветки та суспензію переносили у стерильну пробірку. Повне середовище додавали у кожен пробірку, щоб отримати кінцеву концентрацію клітин 1x10⁵ клітин/100 F1. Клітини потім розташовували на планшетах, як це необхідно, залежно від типу аналізу, який слід було виконати.

Далі описаний звичайний протокол опосередкованої вірусом експресії гетерологічних білків для бакуловірусної інфекції клітин комах Sf9. Кодувальну ділянку ДНК, що кодує рецептор, описаний тут, можна субклонувати у рBlueBacIII в існуючі сайти рестрикції або сайти, вбудовані у послідовності 5' та 3' до кодувальної ділянки поліпептидів. Для одержання бакуловірусу, 0,5 Fg вірусної ДНК (BaculoGold) та 3 Fg конструкту ДНК, що кодує поліпептид, можна трансфектувати спільно у 2x10⁶ клітин Sf9 комах *Spodoptera frugiperda* шляхом

осадження фосфатом кальцію, що описується у Pharmingen (у "Baculovims Expression Vector System: Procedures and Methods Manual"). Клітини потім інкубували протягом 5 днів при температурі 27°C. Супернатант чашки, у якій проводили спільну трансфекцію, можна зібрати шляхом центрифугування, а пляму рекомбінантного вірусу очистити. Процедuru інфікування клітин вірусом, приготування вірусної культури та титрування вірусної культури виконували так, як описано у посібнику Pharmingen. Подібні принципи будуть взагалі застосовуватися для експресії клітин ссавців, опосередкованої ретровірусами, лісовим вірусом Simliki та вірусами з ДНК з подвійним ланцюгом, такими як аденовірус, вірус герпесу та вірус вісповакцини тощо.

Стійка експресія

Гетерологічну ДНК можна стабільно включити у клітини-хазяїни, примушуючи клітину постійно експресувати сторонній білок. Способи введення ДНК у клітину є подібними до способів, описаних вище для тимчасової експресії, проте вони потребують спільної трансфекції допоміжного гена, щоб надати стійкості до антибіотиків клітині-хазяїні, що є мішенню. Одержану стійкість до антибіотиків можна застосовувати для відбору та зберігання клітин з одержаною гетерологічною ДНК. Набір генів стійкості є доступним і включає, проте, не обмежуючись лише ними, ген стійкості до неомицину, канаміцину та гіроміцину. Для цілей проведення дослідів з рецептором, стійку експресію гетерологічного рецепторного білка здійснюють у, проте не обмежуючись обов'язково ними, клітинах ссавців, які включають CHO, HEK293, LM (tk-) тощо.

Приготування клітинних мембран

Для здійснення аналізів зв'язування, осад трансфектованих клітин суспендували у льодяному буфері (20мМ Tris-HCl, 5мМ EDTA, pH 7,4) та гомогенізували ультразвуком протягом 7 секунд. Клітинні лізати центрифугували при 200 x g протягом 5 хвилин при 4°C. Супернатанти потім центрифугували при 40000 x g протягом 20 хвилин при 4°C. Отриманий осад потім промивали один раз у буфері гомогенізації та суспендували у буфері зв'язування (дивись способи для зв'язування радіолігандів). Концентрацію білків визначали за способом Bradford (1976), застосовуючи бичачий сироватковий альбумін як стандарт. Аналізи зв'язування звичайно виконували одразу, проте можна приготувати мембрани в певній кількості та зберігати у рідкому азоті для наступного застосування.

Аналізи зв'язування радіолігандів

Аналізи зв'язування радіолігандів для рецептора MCH1 шура здійснювали із застосуванням плазмиди pcDNA3.1-rMCH1-f (ATCC Patent Deposit Designation No. PTA-3505). Плазміда pcDNA3.1-rMCH1-f включає регуляторні елементи, необхідні для експресії ДНК у клітині ссавця, яка є так оперативно зв'язаною з ДНК, яка кодує рецептор MCH1 шура, що забезпечує його експресію. Плазмиду pcDNA3.1-rMCH1-f було віддано на депонування 5 липня 2001 року в Американську Колекцію Типових Культур (ATCC), 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, U.S.A за умовами Будапештського договору про міжнародне визнання

депонування мікроорганізмів з метою здійснення процедури патентування, та вона відповідає у ATCC Patent Deposit Designation № PTA-3505.

Аналізи зв'язування можна також виконувати, як описано далі з плазмідною pEXJ.HR-TL231 (ATCC Accession №203197). Плазміда pEXJ.HR-TL231 кодує рецептор MCH1 людини, та її було віддано на депонування 17 серпня 1998 року в Американську Колекцію Типових Культур (ATCC), 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, U.S.A за умовами Будапештського договору про міжнародне визнання депонування мікроорганізмів з метою здійснення процедури патентування, та вона відповідає у ATCC Accession №203197.

Ембріональні клітини Peak rapid 293 нирки людини (клітини Peakr293) тимчасово трансфектували ДНК, що кодує рецептор MCH1, застосовуючи спосіб з фосфатом кальцію, та клітинні мембрани одержували, як описано вище. Експерименти зі зв'язуванням з мембранами клітин Peakr293, трансфектованих рецептором MCH1 щура, виконували з 0,08нМ [³H] Сполуки А (звичайно міченою Amersham) (синтез Сполуки А описано докладно далі) із застосуванням буферу для інкубації, що складається з 50мМ Tris pH 7,4, 10мМ MgCl₂, 0,16мМ PMSF (фенілметилсульфонілфторид), 1мМ 1,10 фенантроліну та 0,2% BSA (альбуміну бичачої сироватки). Зв'язування виконували при 25°C протягом 90 хвилин. Інкубацію припиняли шляхом швидкого вакуумного фільтрування через фільтри із скловолокна GF/C, які попередньо змочили у 5% PEI, застосовуючи 50нМ Tris pH 7,4 як буфер для промивання. В усіх експериментах неспецифічне зв'язування визначали, застосовуючи 10 FM Сполуки А.

Функціональні аналізи

Клітини можна піддати скринінгу на присутність ендогенного рецептора ссавця, застосовуючи функціональні аналізи. Клітини без або з низьким рівнем ендогенного рецептора, що є присутнім, можна трансфектувати екзогенним рецептором для застосування у функціональних аналізах.

Широкий спектр аналізів можна застосовувати для скринінгу на активність рецептора. Цей спектр охоплює діапазон від звичайного вимірювання, наприклад, фосфатидилінозитулу, cAMF (аденозинмонофосфату), Ca⁺⁺ та K⁺, до систем, що вимірюють саме ці вторинні месенджери, але які були модифіковані або адаптовані так, щоб вони мали більш високу пропускну здатність, були більш загальними та більш чутливими; до платформ на основі клітин, що дають інформацію про більш загальні клітинні події, які є результатом активації рецептора, такі як, наприклад, метаболічні зміни, диференцировка та клітинний розподіл/проліферація; до аналізів вищих організмів, які відбивають комплекс фізіологічних або поведінкових змін, які, як вважають, включають активацію рецептора, включаючи, наприклад, серцево-судинні, знеболювальні ефекти, ефект, що викликає апетит, анкіолітичні та седативні ефекти.

Результати аналізу зв'язування радіолігандів

Сполуки, описані вище, проаналізували із застосуванням клонованого MCH1 щура. Зв'язувальну спорідненість сполук наведено у Таблиці 1.

V. Синтез сполуки А

Нижче описано синтез Сполуки А. Сполука А - це мічена радіоактивним ізотопом сполука, яку застосовували в аналізах зв'язування радіолігандів, описаних вище.

N-[3-(1,2,3,6-тетрагідро-4-піридиніл)феніл]ацетамід: Внаслідок реакції насиченого водного розчину Na₂CO₃ (25мл), трет-бутил 4-[[[(трифторметил)сульфоніл]окси]-1,2,3,6-тетрагідро-1-піридинкарбоксилату (20ммоль), 3-ацетамідофеніл боронової кислоти (30ммоль) та тетракстрифенілфосфшпаладію(0) (1,15г) у диметоксигані (40мл) при температурі дефлегмації протягом ночі отримали трет-бутил 4-[3-(ацетиламіно)феніл]-3,6-дигідро-1(2Н)-піридинкарбоксилат. Внаслідок зняття захисту групи ВОС із застосуванням НСІ у діоксані з наступним підлужуванням (pH 11-12) отримали бажаний продукт.

Трет-бутил N-(3-бромпропіл)карбамат: одержали з гідроброміду 3-бромпропіламіну та ВОС₂O у присутності основи в дихлорометані.

N-{3-[1-(3-амінопропіл)-1,2,3,6-тетрагідро-4-піридиніл]феніл]ацетамід: Внаслідок реакції трет-бутил N-(3-бромпропіл)карбамату та N-[3-(1,2,3,6-тетрагідро-4-піридиніл)феніл]ацетаміду у діоксані при кип'ятінні у колбі зі зворотним холодильником з каталізатором Вu₄Ni та лугом, як показано на Схемі А, отримали трет-бутил 3-(4-[3-(ацетиламіно)феніл]-3,6-дигідро-1(2Н)-піридиніл)пропілкарбамат. Видалення захисної групи ВОС із застосуванням НСІ у діоксані з наступним підлужуванням (pH 11-12) давало бажаний продукт.

Метил (4S)-3-[[[3-(4-[3-(ацетиламіно)феніл]-3,6-дигідро-1(2Н)-піридиніл)пропіл]аміно]карбоніл]-4-(3,4-дифторфеніл)-6-(метоксиметил)-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піперидинкарбоксилат: одержували за реакцією 5-метил 1-(4-нітрофеніл)(6S)-6-(3,4-Дифторфеніл)-4-(метоксиметил)-2-оксо-3,6-дигідро-1,5(2Н)-піримідиндикарбоксилату [описано у РСТ публікації No. WO 00/37026, опублікованій 29 липня 2000 року] з N-{3-[1-(3-амінопропіл)-1,2,3,6-тетрагідро-4-піридиніл]феніл]ацетамідом: ¹H ЯМР δ 8,90 (т, 1H, J=3,6Гц), 7,75 (с, 1H), 7,50-7,00 (м, 8H), 6,68 (с, 1H), 6,03 (ушир с, 1H), 4,67 (с, 2H), 3,71 (с, 3H), 3,47 (с, 3H), 3,38 (ABм, 2H), 3,16 (м, 2H), 2,71 (т, 2H, J=5,4Гц), 2,56 (м, 4H), 2,35-1,90 (ушир, 2H), 2,17 (с, 3H), 1,82 (п, 2H, J=7,2Гц), ESMS, 612,25 (M+H)⁺.

Мічений тритієм метил (4S)-3-[[[3-(4-[3-(ацетиламіно)феніл]-1-піперидиніл)пропіл]аміно]карбоніл]-4-(3,4-дифторфеніл)-6-(метоксиметил)-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піперидин-карбоксилат: Метил (4S)-3-[[[3-(4-[3-(ацетиламіно)феніл]-3,6-дигідро-1(2Н)-піридиніл)пропіл]аміно]карбоніл]-4-(3,4-дифторфеніл)-6-(метоксиметил)-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинкарбоксилат мітили тритієм (Amersham), застосовуючи описаний холодний спосіб (H₂, балонний метод, метанол, Pd/C, протягом ночі), внаслідок чого отримали мічений тритієм метил (4S)-3-[[[3-(4-[3-(ацетиламіно)феніл]-1-піперидиніл)пропіл]аміно]карбоніл]-4-(3,4-дифторфеніл)-6-(метоксиметил)-2-оксо-1,2,3,4-тетрагідро-5-піримідинкарбоксилат ((+)-ізомер),

який, у свою чергу, застосовували як радіоліганд у фармакологічних аналізах MCH.

ТАБЛИЦЯ I

Приклад №	Структура	Ki (нМ)
1		79,6
2		197
3		1104
4		353
5		476
6		438
7		142
8		181

Приклад №	Структура	Ki (нМ)
9		313
10		20,9
11		46,6
12		33,8

VI. Способи in vivo

Наступні способи in vivo виконували для того, щоб визначити ефективність антагоністів MCH1 для лікування ожиріння (триденний тест ваги тіла та приймання підсолодженого згущеного молока), депресії (тест примусового плавання), тривожного стану (тест соціальної взаємодії) та сечових порушень (DIRC (зумовлене розтягненням ритмічне скорочення) та CSTI (безперервна повільна трансвезикулярна інфузія)).

Вплив антагоністів MCH1 на вагу тіла (триденний)

Самців щурів Long Evans (Charles River), що мали вагу 180-200 грамів, розташували у групи по чотири самці з чергуванням кожні 12 годин періодів освітленості та темряви та необмеженим доступом до їжі та води. Сполуки, що випробувалися, вводили двічі на день шляхом внутрішньочеревинної ін'єкції за годину до циклу темряви та через 2 години після включення світла протягом 3 днів. Вагу всіх щурів визначали щоденно після кожної ранкової ін'єкції. Загальні результати було представлено як вагу тіла (грами), набуту за день (середнє значення \pm SEM), та аналізували шляхом двофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Дані для кожного моменту часу проаналізували шляхом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), а потім визначали post hoc критерій за Ньюманом-Кельсом (Newman-Keuls). Дані проаналізували із застосуванням GraphPad Prism (v 2.01) [GraphPad Software, Inc., San Diego, CA]. Усі дані було представлено як середнє \pm SEM.

Вплив антагоністів MCH1 на споживання під-

солодженного згущеного молока

Самців мишей C57BL/6 (Charles River), що мали вагу 17-19 грамів на початку експериментів, розташували у групи по чотири або п'ять самців з чергуванням кожні 12 годин періодів освітленості та темряви та необмеженим доступом до їжі та води. Протягом 7 днів визначали вагу мишей, розташовували їх в окремих клітках та дозволяли їм пити підсолоджене згущене молоко (Nestle, розведене водою 1:3) протягом 1 години, 2-4 години під час циклу освітленості. Кількість випитого молока визначали зважуванням пляшки з молоком до та після кожного прийому. У день проведення тесту мишам вводили внутрішньочеревинною ін'єкцією випробувану сполуку (3, 10 або 30мг/кг у 0,01% молочній кислоті), носій (0,01% молочна кислота) д-фенфлурамін (10мг/кг в 0,01% молочній кислоті) за 30 хвилин до споживання молока. Кількість молока, спожитого у день експерименту (у мл молока/кг ваги тіла), порівнювали з базисним споживанням для кожної миші, визначеним у попередні 2 дні. Дані для кожного моменту часу проаналізували шляхом однофакторного ANOVA.

Тест примусового плавання (FST1 у щурів Тварини

В усіх експериментах застосовували самців щурів Sprague-Dawley (Taconic Farms, NY). Щурів розташовували групами по 5 самців на клітку та підтримували чергування періодів освітленості та темряви кожні 12 годин. Щурам давали звикнути до рук протягом 1 хвилини кожного дня протягом 4 днів до початку тестування поведінки.

Введення препарату

Тваринам довільно призначали введення єдиної внутрішньочеревинної ін'єкції наповнювача (2,5% EtOH/2,5% Tween-80), іміпраміну (позитивний контроль, 60мг/кг) або випробуваної сполуки за 60 хвилин до початку 5-хвилинного тесту. Усі ін'єкції здійснювали із застосуванням 1см³ туберкулінового шприца з 26 голками розміром 3/8 (Becton-Dickinson VWR Scientific, Bridgeport, NJ). Об'єм ін'єкції становив 1мл/кг.

Схема експерименту

Процедура, яку застосовували у цьому досліді, була подібною до процедури, описаної раніше [Porsolt, et al., 1978], за винятком того, що глибина води у цій процедурі становила 31см. Більша глибина у цьому тесті запобігає тому, щоб щури підтримували себе, торкаючись своїми лапами дна циліндра. Сеанс плавання виконували шляхом розташування щурів в окремих циліндрах з плексигласу (висота 46см x діаметр 20см), що містили воду з температурою 23-25°C та глибиною 31см. Тести плавання здійснювали завжди між 9:00 та 17:00 годинами, та вони складалися з початкового 15-хвилинного тренувального тесту, а потім через 24 години 5-хвилинного тесту. Препарат вводили за 60 хвилин до 5-хвилинного тесту. Після усіх сеансів плавання, щурів видаляли з циліндрів, висушували паперовими рушниками та поміщали у нагріту клітку на 15 хвилин, а потім повертали у їх клітки-домівки. Усі сеанси тесту знімали на відсоплівку, застосовуючи кольорову відеокамеру, та записували для наступного підрахунку.

Поведінкові показники

Поведінку щурів на 5-секундних інтервалах під

час 5-хвилинного тесту оцінювала окрема людина, яка не знала про введення препарату. Показники поведінки були наступними.

1. Імобільність - щур залишається плавати у воді без ознак боротьби та робить тільки ті рухи, які необхідні для підтримування голови над поверхнею води;

2. Видряпування - щур робить активні рухи своїми передніми лапами у воді та над нею, звичайно, рухаючись у напрямку до стінок;

3. Плавання - щур робить активні плавальні рухи, більш активно, ніж це необхідно для простого підтримування голови над поверхнею води, наприклад, рухаючись колами у циліндрі; та

4. Занурення - усе тіло щура було зануреним.

Аналіз даних

Дані тесту примусового плавання (імобільність, плавання, видряпування, занурення) рандомізували, проводили однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) та post hoc аналіз із застосуванням критерію за Ньюманом-Кельсом (Newman-Keuls). Дані проаналізували із застосуванням GraphPad Prism (v2.01) (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Усі дані представили як середнє \pm S.E.M.

Тест примусового плавання (FST) у мишей

Тварини

В усіх експериментах застосовували мишей DBA/2 (Taconic Farms, NY). Тварин розташовували групами по 5 мишей на кожну клітку з контрольованим навколишнім середовищем в умовах чергування кожні 12 годин періодів освітленості та темряви. Тваринам давали звикнути до рук протягом 1 хвилини кожного дня протягом 4 днів до початку експерименту. Ця процедура включала навчальне примусове харчування через 1,5-дюймову трубку для годування.

Введення препарату

Тваринам довільно призначали одноразове введення наповнювача (5% EtOH/5% Tween-80), випробуваної сполуки або іміпраміну (60мг/кг) шляхом перорального примусового введення за 1 годину до тесту плавання.

Схема експерименту

Процедура тесту примусового плавання мишей була подібною до процедури тесту примусового плавання, описаної вище для щурів, проте, мала деякі модифікації. Циліндр, який застосовували для тесту був 1-літровою лабораторною склянкою (10,5см у діаметрі x 15см висоти), заповненою до 800мл (глибина 10см) водою, температура якої становила 23-25°C. Для кожної миші виконували лише один 5-хвилинний тест плавання між 13:00 та 17:00 годинами. Препарат вводили за 30-60 хвилин до проведення 5-хвилинного тесту. Після усіх сеансів плавання, мишей виймали з циліндрів, висушували паперовими рушниками та поміщали у нагріту клітку на 15 хвилин. Усі сеанси тесту знімали на відеоплівку, застосовуючи кольорову відеокамеру Sony, та записували для наступного підрахунку.

Поведінкові показники

На телевізійному моніторі дослідники продилювали запис поведінки під час 2-5 хвилин тесту та оцінили її. Реєстрували загальний час, коли тварини залишалися іммобільними (тварини плавали

з мінімальними рухами для того, щоб залишатися на плаву) та мобільними (плавання та рухи були більш активними, ніж необхідно для того, щоб утримуватися на плаву).

Аналіз даних

Дані тесту примусового плавання (час іммобільності, мобільності, у секундах) рандомізували, проводили однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) та *post hoc* аналіз із застосуванням критерію за Ньюманом-Кельсом (Newman-Keuls). Дані проаналізували із застосуванням GraphPad Prism (v2.01) (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Усі дані представили як середнє \pm S.E.M.

Тест соціальної взаємодії (SIT)

Щурам дозволили звикнути до сприятливих умов догляду протягом 5 днів та розташували їх окремо один від одного за 5 днів до експерименту. Тваринам давали звикнути до рук протягом 5 хвилин на день. Схему та спосіб проведення тесту соціальної взаємодії здійснювали, як це раніше було описано у [Kennett et al., (1997)]. У день проведення експерименту парам незнайомих один з одним щурів, що мали однакову вагу ($\pm 5\%$) зробили ідентичні ін'єкції та повернули у їх клітки-домівки. Тварин довільно розподілили на 5 груп, по 5 пар на кожну групу, та їм робили одну з наступних внутрішньочеревинних ін'єкцій: випробувана сполука (10, 30 або 100 мг/кг), наповнювач (1 мл/кг) або хлородіазепоксид (5 мг/кг). Дозу вводили за 1 годину до тестування. Потім щурів на 15 хвилин поміщали у білу плексигласову коробку або арену (54x37x26 см) для тесту, дно якої було розділено на 24 однакові квадрати. Кондиціонер застосовували для утворення фонового шуму та підтримування температури кімнати при приблизно 23,3°C (74°F). Усі сеанси знімали на відеоплівку, застосовуючи камеру JVC (модель GR-SZ1, Elmwood Park, NJ) та 30-хвилинні відеокасети TDK (останній бренд HG) або Sony. Усі сеанси виконували у період між 13:00 та 16:30 годинами. Активну соціальну взаємодію, визначену як догляд за поверхнею тіла, обнюхування, кусання, боксування, ігрова боротьба, переслідування та перелазування або підлазування, підраховували із застосуванням секундоміра (модель Sportsline no. 226, із роздільною здатністю 1/100 секунди). Підраховували кількість епізодів підйому на задні лапи (тварина повністю підіймає своє тіло на задніх кінцівках), догляду за поверхнею тіла (вилузування, покусування, шкрябання тіла) та умивання морди (тобто неодноразові рухи лап по морді), а також кількість квадратів, що перетиналися твариною. Пасивну соціальну взаємодію (тварини лежать поруч або одна на одній) не рахували. Уся поведінка пізніше оцінювалася дослідником, який нічого не знав про ін'єкції, зроблені кожній парі. Наприкінці кожного тесту коробку ретельно витирали зволоженими паперовими рушниками.

Тварини

Самців щурів-альбіносів Sprague-Dawley (Taconic Farms, NY) розміщували парами в умовах чергування кожні 12 годин періодів освітленості та темряви (світло вмикають о 07:00), при цьому вони мали необмежений доступ до води та їжі.

Введення препарату

Випробувану сполуку розчиняли або у 100%

диметилсульфоксиді (DMSO), або у 5% молочній кислоті (об'ємних %) ((Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Хлородіазепоксид (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) розчиняли у двічі дистильованій воді. Наповнювач складався з 50% диметилсульфоксиду (об'ємних %) або 100% диметилацетаміду (DMA). Усі розчини препаратів виготовляли за 10 хвилин до ін'єкції та розчини виливали наприкінці кожного дня тестування. Об'єм розчину препаратів, який вводили, становив 1 мл/кг.

Аналіз даних

Дані тесту соціальної взаємодії (час взаємодії, підведення на задні лапи та перетинання квадратів) рандомізували та проводили однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) та *post hoc* аналіз із застосуванням критерію за Студентом-Ньюманом-Кельсом (Student-Newman-Keuls). Дані аналізували на відповідність критерію нормальності за Шапіро-Уілком (Shapiro-Wilk). Дані аналізували за допомогою програми GBSTAT, за версією 6,5 (Dynamics Microsystems, Inc., Silver Spring, MD, 1997). Усі дані представили як середнє \pm S.E.M.

Моделі рефлексу сечовипускання *in vivo*

Вплив сполук на рефлекс сечовипускання оцінювали на моделях щурів з "зумовленим розтягненням ритмічним скороченням" (DIRC), як описано у попередніх публікаціях [наприклад, Maggi et al., 1987, Morikawa et al., 1992], та з безперервною повільною трансвезикулярною інфузією (CSTI).

Модель зумовленого розтягненням ритмічного скорочення (DIRC)

Самок щурів Sprague Dawley, вага яких становила приблизно 300 г, анестезували підшкірним введенням уретану (1,2 г/кг). У трахею ввели канюлю з трубкою PE240 для забезпечення безперешкодної прохідності дихальних шляхів під час усього експерименту. По серединній лінії черевини зробили розріз та ізолювали лівий та правий сечоводи. На сечоводи дистально наклали лігатуру (щоб запобігти витіканню рідини з сечового міхура), а проксимально в них увели канюлю з трубкою PE10. Розріз зашили за допомогою шовкових ниток 4-0, залишивши кінець трубок PE10 зовні для виведення сечі. У сечовий міхур трансуретралью увели канюлю, застосовуючи трубку PE50, яку ввели на відстані 2,5 см від отвору уретри. Цю канюлю закріпили на хвості за допомогою стрічки та з'єднали з датчиком тиску. Для того, щоб запобігти витіканню сечі з сечового міхура, канюлю міцно приєднали до зовнішнього отвору уретри, застосовуючи шовкові нитки 4-0. Для того, щоб стимулювати рефлекс сечовипускання, сечовий міхур спочатку спорожнили шляхом прикладання тиску на нижній відділ черевини, а потім заповнювали звичайним фізіологічним розчином з 100 збільшенням (максимум = 2 мл) до спонтанного скорочування сечового міхура (звичайно 20-40 мм рт. ст.) зі швидкістю одне скорочення кожні 2-3 хвилини. Коли встановився регулярний ритм, наповнювач (фізіологічний розчин) або випробувані сполуки ввели шляхом внутрішньовенної або внутрішньочеревинної ін'єкції для того, щоб досліджувати їх вплив на активність сечового міхура. Як позитивний контрольний препарат застосовували антагоніст 5-HT_{1A} WAY-100635. Дані представили як інтервал скорочення (у секундах) перед вве-

денням препарату (базисні) або після застосування наповнювача або випробуваної речовини.

Моделювання безперервної повільної транс-везикулярної інфузії (CSTI) на щурах

Для досліджу застосовували самців щурів Sprague Dawley, вага яких становила приблизно 300г. Щурів анестезували пентобарбітоном натрію (50мг/кг, внутрішньочеревинна ін'єкція). Зробивши розріз посередині черевини, отримали доступ до сечового міхура, у який крізь невеликий надріз на куполі сечового міхура ввели поліетиленову канюлю (PE 50) та канюлю закріпили за допомогою касетного шва. Інший кінець канюлі вивели зовні крізь шкіру на дарсальній ділянці шиї. Подібно до цього, іншу канюлю (PE 50) ввели у шлунок крізь парамедіальний розріз черевини, при цьому вільний кінець канюлі вивели зовні крізь шкіру на ділянці шиї. Хірургічні рани зашили шовковою ниткою 4-0 та тварин залишали відновлюватися, застосовуючи відповідний пост-хірургічний догляд. Наступного дня тварину розташовували у апараті для фіксування лап щурів. Відкритий кінець канюлі

сечового міхура приєднали через трибічний запірний кран як до датчика тиску, так і до інфузійного насоса. Цикли спорожнення сечового міхура ініціювали безперервною інфузією звичайного фізіологічного розчину зі швидкістю 100мкл/хвилину. Повторні спорожнювальні стиснення реєстрували з використанням програмного забезпечення безпосереднього отримання даних Power Lab. Після реєстрування базисної картини спорожнення протягом години, безпосередньо у шлунок через внутрішньошлунковий катетер вводили випробувану сполуку або наповнювач та протягом 5 годин спостерігали за циклами спорожнення. Тиск при сечовипусканні та частоту підраховували до та після ін'єкції (з інтервалом кожні 30 хвилин) для кожної тварини. Місткість сечового міхура рахували на основі частоти сечовипускання при постійній інфузії 100мкл/хвилину. Вплив випробуваних сполук представили як відсоток від базисної (до застосування сполук) місткості сечового міхура. WAY 100635 застосовували як позитивний контроль для порівняння.