



УКРАЇНА

(19) UA (11) 75572 (13) C2

(51) МПК (2006)

C07C 229/28 (2006.01)

C07C 59/00

A61K 31/19 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

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

(54) ІНГІБІТОРИ АМІНОТРАНСФЕРАЗ, ЗАЛЕЖНИХ ВІД АМІНОКИСЛОТ З РОЗГАЛУЖЕНИМ ЛАНЦЮГОМ, І ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ В ЛІКУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

1

2

(21) 2001096181

(22) 08.11.2000

(24) 15.05.2006

(86) PCT/US00/30769, 08.11.2000

(31) 60/169,635

(32) 08.12.1999

(33) US

(31) 60/175,399

(32) 11.01.2000

(33) US

(31) 60/230,020

(32) 05.09.2000

(33) US

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

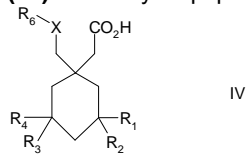
(72) Брайнс Джастін Стефен, GB, Ху Лайн-Йєн, US, Хутсон Сьюзан М., US, Ланоуе Катрін Фолі, US, Ліет Еріх, US, Рафферті Міхаель Франсіс, US, Райдер Тодд Роберт, US, Су Ті-Жі, US, Велті Девін Франклін, US, Вустроу Девід Юрген, US

(73) ВАРНЕР-ЛАМБЕРТ КОМПАНІ, US, ПЕНН СТЕЙТ РІСЕРЧ ФАУНДЕЙШН, US, ВЕЙК ФОРЕСТ ЮНІВЕРСИТЕТІ, US

(56) WO 9733858, 18.09.1997

FIELD M J ET AL: "EVALUATION OF GABAPENTIN AND S-(+)-3-ISOBUTYL GABA IN A RAT MODEL OF POSTOPERATIVE PAIN" JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND, US, vol. 282, no. 3, september 1997 (1997-09), pages 1242-1246, XP 000946613

(57) 1. Сполука формули IV



де

R₁-R₄ є воднем або C₁-C₁₀-алкілом;X є NR₅;R₅ є воднем або C₁-C₁₀-алкілом,R₆ є C₁-C₁₀-алкілом, бензилом, C₄-C₉-арил-C₁-C₁₀алкілом, в якому від 1 до 4 кільцевих атомів

арилу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або N, C₁-C₁₀-алкоксигрупою, C₃-C₁₀-циклоалкілом, в якому від 1 до 3 атомів вуглецю можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR², де R² означає водень або C₁-C₁₀-алкіл, алілом, C₁-C₁₀-алкіл-C₃-C₁₀-циклоалкілом, в якому від 1 до 3 кільцевих атомів циклоалкілу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR², де R² має вказане вище значення, тризаміщеним галоген-C₁-C₁₀-алкілом, причому вказані алкільні, алкоксильні, алільні групи можуть бути заміщені переважно 1-3 групами, вибраними з групи, яка включає NR⁴R⁵, де R⁴ та R⁵ означають водень або C₁-C₁₀-алкіл, незаміщений або заміщений феніл, тіо-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₆-алкокси, гідрокси, карбокси, C₁-C₆-алкоксикарбоніл, галоген, нітрил, C₃-C₁₀-циклоалкіл, та 5- або 6-членне карбоциклічне кільце або гетероциклічне кільце, що містить 1 або 2 гетероатоми, вибрані з групи, яка включає азот, який у свою чергу може бути заміщений C₁-C₆-алкілом або незаміщеним або заміщеним галогеном (CH₂)_nфенілом, де n означає 1, 2 або 3, кисень та сірку; причому вказані циклоалкільні групи можуть бути заміщені гідроксигрупою або кетогрупою, а вказані арильні та бензильні групи можуть бути заміщені 1, 2 або 3 групами, вибраними зі списку, що включає C₁-C₁₀-алкіл, можливо заміщений так, як вказано вище, C₁-C₁₀-алкоксил, можливо заміщений так, як вказано вище, тіогрупу, тіо-C₁-C₁₀-алкіл, гідрокси, карбоніл, групу формули – NR⁴R⁵, T(CH₂)_mQR⁴ або T(CH₂)_mCO₂R⁴, де m означає від 1 до 6, T означає O, S, NR⁴, N(O)R⁴, NR⁴R⁶ або CR⁴R⁵, Q означає O, S, NR⁵, N(O)R⁵ або NR⁵R⁶, де R⁴ та R⁵ визначені так, як описано вище, а R⁶ означає незаміщений або заміщений так, як вказано вище, C₁-C₁₀-алкіл;

і якщо R₁-R₄ кожний є воднем, то R₆ не є метилом; або її фармацевтично прийнятна сіль, ефір або амід.

2. Сполука за п. 1, де R₂ і R₄ є воднем, а R₁ і R₃ є C₁-C₁₀-алкілом; R₂ і R₄ є воднем, а R₁ і R₃ є метилом; R₁-R₄ є воднем; R₁ є C₁-C₁₀-алкілом, а R₂-R₄ є воднем; R₁ є метилом, а R₂-R₄ є воднем; R₅ є вод-

(13) C2

(11) 75572

(19) UA

нем; $X \in NR_5$; $X \in O$; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкілом; $R_6 \in$ бензилом; $R_6 \in$ ацетилом; $R_6 \in$ феніл- C_1-C_{10} -алкілом; $R_6 \in C_3-C_{10}$ -циклоалкілом, в якому принаймні один кільцевий атом циклоалкілу може бути замінений гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 має вказане вище значення; $R_6 \in$ трифтор- C_1-C_{10} -алкілом; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкіл- C_3-C_{10} -циклоалкілом, в якому принаймні один кільцевий атом циклоалкілу може бути замінений гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 має вказане вище значення; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкоксигрупою і $R_6 \in$ алілом, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як вказано вище.

3. Сполука за п. 1, де R_2 і $R_4 \in$ воднем, а R_1 і $R_3 \in$ метилом; $R_1-R_4 \in$ воднем; $R_1 \in$ метилом, а $R_2-R_4 \in$ воднем; $R_5 \in$ воднем; $X \in NR_5$; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкілом; $R_6 \in$ бензилом; $R_6 \in$ феніл- C_1-C_{10} -алкілом; $R_6 \in C_3-C_{10}$ -циклоалкілом, в якому принаймні один кільцевий атом циклоалкілу може бути замінений гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 має вказане вище значення; $R_6 \in$ трифтор- C_1-C_{10} -алкілом; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкіл- C_3-C_{10} -циклоалкілом, в якому принаймні один кільцевий атом циклоалкілу може бути замінений гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 має вказане вище значення; $R_6 \in C_1-C_{10}$ -алкоксигрупою і $R_6 \in$ алілом, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як вказано вище.

4. Сполука за п. 1, де R_2 і $R_4 \in$ воднем, а R_1 і $R_3 \in$ метилом; $R_1-R_4 \in$ воднем.

5. Сполука за п. 1, вибрана з групи, що включає:

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -(3,5-диметил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -(1-етиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -[(1-бензиламінометил)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -(1-диметиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -(1-бутиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -{1-[(бензилметиладель)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -(3,5-диметил-1-метиладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -[1-(ізобутиладель)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -[3,5-диметил-1-(фенетиладель)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -{3,5-диметил-1-[(3-фенілпропіладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклобутилметиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

$1\alpha,3\beta,5\beta$ -[1-(ізопропіладель)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(2-метилбутиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(4,4,4-трифторбутиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-етиладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклопропілметиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(ізобутиладель)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-пропіладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(ізопропіладель)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-циклогексильладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(бензиладель)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

((1R,3R)-3-метил-1-пропіладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклопентилметиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклогексилметиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(трет-бутоксикарбонильладель)-циклогексил]-оцтову кислоту;

((3R,5S)-1-циклобутиладель)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(3R,5S)-3,5-диметил-1-[(2-метилбутиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(3R,5S)-1-[(2,2-диметоксietiладель)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(3R,5S)-1-[(циклопентилметиладель)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(3R,5S)-1-[(циклогексилметиладель)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-1-циклогексильладель)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-бутиладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(2,2-диметоксietiладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-метиладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(бензилметиладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-[(фенетиладель)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(3-фенілпропіладель)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-1-етиладель)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-3,5-диметил-1-пропіладель)-оцтової кислоти гідрохлорид;

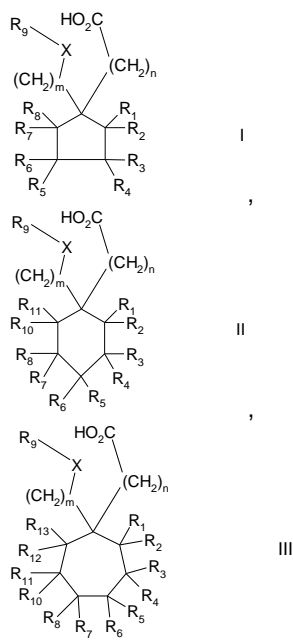
[(1R,3R)-1-(бензиладель)-3-метилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(1R,3R)-1-[(бензилметиладель)-метил]-3-метилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид

або ((1R,3R)-3-метил-1-метиладель)-оцтової кислоти гідрохлорид.

6. Спосіб лікування діабетичної ретинопатії, який включає стадію призначення терапевтично ефективною кількості сполуки формул I, II і/або III паціє-

нту, що має в цьому потребу



де:

$R_9 \in H$, C_1 - C_{10} -алкілом, C_3 - C_{10} -циклоалкілом, в якому від 1 до 3 атомів вуглецю можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 означає водень або C_1 - C_{10} -алкіл, заміщеним C_1 - C_{10} -алкілом, що містить галоген, аміном, C_1 - C_{10} -алкоксигрупою, C_3 - C_{10} -циклоалкілом або гідроксильом, алілом, C_2 - C_6 -алкінілом, C_1 - C_{10} -алканойлом, C_1 - C_{10} -алкоксі- C_1 - C_{10} -алканойлом, сульфонілом, фенілом; бензилом або C_4 - C_9 -арил- C_1 - C_{10} -алкілом, в якому від 1 до 4 кільцевих атомів арилу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або N; причому вказані алкільні, алкоксильні, алкінільні, алканойльні або алільні групи можуть бути заміщені переважно 1-3 групами, вибраними з групи, яка включає NR^4R^5 , де R^4 та R^5 означають водень або C_1 - C_{10} -алкіл, незаміщений або заміщений феніл, тіо- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -алкокси, гідрокси, карбокси, C_1 - C_6 -алкоксикарбоніл, галоген, нітрil, C_3 - C_{10} -циклоалкіл, та 5- або 6-членне карбоциклічне кільце або гетероциклічне кільце, що містить 1 або 2 гетероатоми, вибрані з групи, яка включає азот, який, у свою чергу, може бути заміщеним C_1 - C_6 -алкілом або незаміщеним або заміщеним галогеном $(CH_2)_n$ фенілом, де n означає 1, 2 або 3, кисень та сірку; та причому вказані циклоалкільні групи можуть бути заміщені гідроксигрупою або кетогрупою, а вказані арильні, фенільні та бензильні групи можуть бути заміщені 1, 2 або 3 групами, вибраними зі списку, який включає C_1 - C_{10} -алкіл, можливо заміщений так, як вказано вище, C_1 - C_{10} -алкоксил, можливо заміщений так, як вказано вище, тіогрупу, тіо- C_1 - C_{10} -алкіл, гідрокси, карбоніл, групу формули $-NR^4R^5$, $T(CH_2)_mQR^4$ або $T(CH_2)_mCO_2R^4$, де m означає від 1 до 6, T означає O, S, NR^4 , $N(O)R^4$, NR^4R^6 або CR^4R^5 , Q означає O, S, NR^5 , $N(O)R^5$ або NR^5R^6 , де R^4 та R^5 визначені так, як описано вище, а R^6 означає незаміщений або заміщений так, як вказано вище, C_1 - C_{10} -алкіл; m і n є незалежним цілим числом від 1 до 3; R_1 - R_8 і R_{10} - R_{14} є незалежно H, незаміщеним або

заміщеним так, як вказано вище, C_1 - C_{10} -алкілом; а $X = NR_{14}$, причому

якщо існує більше, ніж 1 стереоізомер, то кожний хіральний центр може незалежно бути R або S; або її фармацевтично прийнятної солі, ефіру або аміді.

7. Спосіб за п. 6, де m і n є 1; $X \in NR_{14}$; $R_9 \in H$; R_4 є метилом; R_4 і R_5 є метилом; R_8 є метилом; R_{10} є метилом; R_7 і R_8 є метилом; R_4 і R_8 є метилом; R_1 - R_8 і R_{10} - R_{13} є H; $R_9 \in C_1$ - C_{10} -алкілом; R_9 є бензилом; $R_{14} \in C_1$ - C_{10} -алкілом; $R_9 \in C_4$ - C_9 -арил- C_1 - C_{10} -алкілом; $R_9 \in C_3$ - C_{10} -циклоалкілом; R_1 - R_8 є H; R_1 - R_8 і R_{10} - R_{11} є H; R_1 - R_2 і R_7 - R_8 є H або R_2 є метилом, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як описано вище.

8. Спосіб за п. 6, де $R_3 \in C_1$ - C_{10} -алкілом, R_1 - R_2 і R_4 - R_{11} і R_{14} є воднем, m і n є 1, а $X \in NR_{14}$; R_3 і R_{11} є C_1 - C_{10} -алкілом, R_1 - R_2 і R_4 - R_{10} і R_{14} є воднем, m і n є 1, а $X \in NR_{14}$; R_3 і R_{11} є C_1 - C_{10} -алкілом, R_1 - R_2 і R_4 - R_{10} і R_{14} є воднем, m і n є 1, $R_9 \in C_1$ - C_{10} -алкілом, а $X \in NR_{14}$; і R_1 - R_{11} і R_{14} є воднем, m і n є 1, а $X \in O$, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як описано вище.

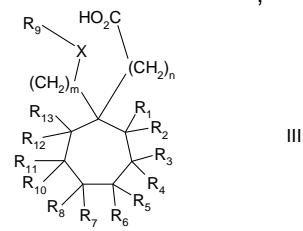
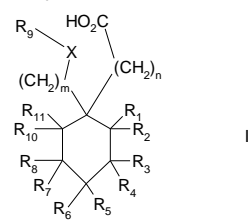
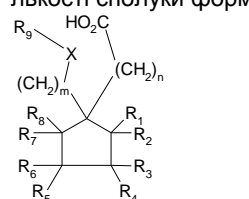
9. Спосіб за п. 6, де сполука вибрана з групи, що включає:

- 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-діетилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- транс-(1R,3R)(1-амінометил-3-метилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (1-амінометил-2-метилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (1-амінометил-3,3-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (+/-) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (цис/транс)-(3R)-(1-амінометил-3-метилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (+) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- (+) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(3,5-диметил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(1-етиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -[(1-бензиламінометил)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(1-диметиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(1-бутиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -{1-[(бензилметиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
- 1 α ,3 β ,5 β -(3,5-диметил-1-метиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти

гідрохлорид;
 1 α ,3 β ,5 β -[1-(ізобутиламінометил)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(циклобутилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1 α ,3 β ,5 β -[1-(ізопропіламінометил)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1-амінометил-1-циклогексаноцтову кислоту;
 1-амінометил-1-циклопентаноцтову кислоту;
 1-амінометил-1-циклопентаноцтової кислоти натрієву сіль;
 {1-[(2-метилбутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(4,4,4-трифторбутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-етиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(циклопропілметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(2-гідрокси-1-метилетиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 [1-(ізобутиламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 [1-(ізопропіламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-циклогексиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 [1-(бензиламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((1R,3R)-3-метил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[циклопентилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[циклогексилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 [1-(трет-бутоксикарбоніламінометил)-циклогексил]-оцтову кислоту;
 ((3R,5S)-1-циклобутиламінометил)-3,5-диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(3R,5S)-3,5-диметил-1-[(2-метилбутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(3R,5S)-1-[(2-гідрокси-1-метилетиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(3R,5S)-1-[(2,2-диметоксіетиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(3R,5S)-1-[(циклопентилметиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(3R,5S)-1-[(циклогексилметиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-циклогексиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-диметиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-бутиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(2,2-диметоксіетиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-метиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(бензилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(3-фенілпропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-етиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-амінометил-4-етилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-амінометил-4-пропілциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид або
 ((3R,5S)-3,5-диметил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид.

10. Спосіб інгібування амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом, у пацієнтів, які мають в цьому потребу, який включає стадію призначення терапевтично ефективної кількості сполуки формул I, II і/або III



де:

R₉ є H, C₁-C₁₀-алкілом, C₃-C₁₀-циклоалкілом, в якому від 1 до 3 атомів вуглецю можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR², де R² означає водень або C₁-C₁₀-алкіл, заміщеним C₁-C₁₀-алкілом, що містить галоген, аміном, C₁-C₁₀-алкоксигрупою, C₃-C₁₀-циклоалкілом або гідроксильом, алілом, C₂-C₆-алкінілом, C₁-C₁₀-алканойлом, C₁-C₁₀-алкоксі-C₁-C₁₀-алканойлом, сульфонілом, фенілом, бензилом або C₄-C₉-арил-C₁-C₁₀-алкілом, в якому від 1 до 4 кільцевих атомів арилу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або N; причому вказані алкільні, алкоксильні, алкінільні, алканойльні або алільні групи можуть бути заміщені, переважно 1-3 групами, вибраними з групи, яка включає NR⁴R⁵, де R⁴ та R⁵ означають водень або C₁-C₁₀-алкіл, незаміщений або заміщений феніл, тіо-C₁-C₆-алкіл, C₁-C₆-алкокси, гідрокси, карбокси, C₁-C₆-алкоксикарбоніл, галоген, нітрil, C₃-C₁₀-циклоалкіл, та 5- або 6-членне карбоциклічне кільце або гетероциклічне кільце, що містить 1 або 2 гетероатоми, вибрані з групи, яка включає азот, який, у свою чергу, може бути заміщеним C₁-

C₆-алкілом або незаміщеним або заміщеним галогеном (CH₂)_nфенілом, де n означає 1, 2 або 3, кисень та сірку; та причому вказані циклоалкільні групи можуть бути заміщені гідроксигрупою або кетогрупою, а вказані арильні, фенільні та бензильні групи можуть бути заміщені 1, 2 або 3 групами, вибраними зі списку, що включає C₁-C₁₀-алкіл, можливо заміщений так, як вказано вище, C₁-C₁₀-алкоксил, можливо заміщений так, як вказано вище, тіогрупу, тіо-C₁-C₁₀-алкіл, гідрокси, карбоніл, групу формули -NR⁴R⁵, T(CH₂)_mQR⁴ або T(CH₂)_mCO₂R⁴, де m означає от 1 до 6, T означає O, S, NR⁴, N(O)R⁴, NR⁴R⁶ або CR⁴R⁵, Q означає O, S, NR⁵, N(O)R⁵ або NR⁵R⁶, де R⁴ та R⁵ визначені так, як вказано вище, а R⁶ означає незаміщений або заміщений так, як вказано вище, C₁-C₁₀-алкіл; m і n є незалежним цілим числом від 1 до 3; R₁-R₈ і R₁₀-R₁₄ є незалежно H, незаміщеним або заміщеним так, як вказано вище, C₁-C₁₀-алкілом; а X = NR₁₄, причому,

якщо існує більше, ніж один стереоізомер, кожний хіральний центр може незалежно бути R або S; або її фармацевтично прийнятної солі, ефіру або амиду.

11. Спосіб за п. 10, де m і n є 1; X є NR₁₄; R₉ є H; R₄ є метилом; R₄ і R₅ є метилом; R₈ є метилом; R₁₀ є метилом; R₇ і R₈ є метилом; R₄ і R₈ є метилом; R₁-R₈ і R₁₀-R₁₃ є H; R₉ є алкілом; R₉ є бензилом; R₁₄ є C₁-C₁₀-алкілом; R₉ є C₄-C₉-арил-C₁-C₁₀-алкілом; R₉ є C₃-C₁₀-циклоалкілом; R₁-R₈ є H; R₁-R₈ і R₁₀-R₁₁ є H; R₁-R₂ і R₇-R₈ є H або R₂ є метилом, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як вказано вище.

12. Спосіб за п. 10, де R₃ є алкілом, R₁-R₂ і R₄-R₁₁ і R₁₄ є воднем, m і n є 1, а X є NR₁₄; R₃ і R₁₁ є C₁-C₁₀-алкілом, R₁-R₂ і R₄-R₁₀ і R₁₄ є воднем, m і n є 1, а X є NR₁₄; R₃ і R₁₁ є алкілом, R₁-R₂ і R₄-R₁₀ і R₁₄ є воднем, m і n є 1, R₉ є C₁-C₁₀-алкілом, а X є NR₁₄; і R₁-R₁₁ і R₁₄ є воднем, m і n є 1, а X є O, причому вказані групи можуть бути заміщені так, як вказано вище.

13. Спосіб за п. 10, де сполуки вибрані з групи, що включає:

транс-(1R,3R)-(1-амінометил-3-метилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-амінометил-2-метилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-амінометил-3,3-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(+/-) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(цис/транс)-(3R)-(1-амінометил-3-метилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(+) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(+) (транс)-(1-амінометил-3,4-диметилциклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(1-амінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(3,5-диметил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(1-етиламінометил-3,5-

диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-[(1-бензиламінометил)-3,5-

диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(1-диметиламінометил-3,5-

диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(1-бутиламінометил-3,5-

диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-[1-[(бензилметиламіно)-метил]-3,5-

диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-(3,5-диметил-1-

метиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-[1-(ізобутиламінометил)-3,5-

диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклобутилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

1α,3β,5β-[1-(ізопропіламінометил)-3,5-

диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

1-амінометил-1-циклогексаноцтову кислоту;

1-амінометил-1-циклопентаноцтову кислоту;

1-амінометил-1-циклопентаноцтової кислоти натрієву сіль;

{1-[(2-метилбутиламіно)-метил]-циклогексил}-

оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(4,4,4-трифторбутиламіно)-метил]-

циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-етиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклопропілметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(2-гідрокси-1-метилетиламіно)-метил]-

циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(ізобутиламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(ізопропіламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-циклогексиламінометилциклогексил)-оцтової

кислоти гідрохлорид;

[1-(бензиламінометил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

((1R,3R)-3-метил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклопентилметиламіно)-метил]-циклогексил}-

оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(циклогексилметиламіно)-метил]-циклогексил}-

оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-(трет-бутоксикарбоніламінометил)-циклогексил]-оцтову кислоту;

((3R,5S)-1-циклобутиламінометил)-3,5-

диметилциклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{{(3R,5S)-3,5-диметил-1-[(2-метилбутиламіно)-

метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{{(3R,5S)-1-[(2-гідрокси-1-метилетиламіно)-метил]-

3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{{(3R,5S)-1-[(2,2-диметоксіетиламіно)-метил]-3,5-

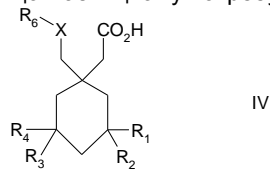
диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

{{(3R,5S)-1-[(циклопентилметиламіно)-метил]-3,5-

диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохло-

рид;
 {(3R,5S)-1-[(циклогексилметиламіно)-метил]-3,5-диметилциклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-циклогексиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-диметиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-бутиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(2,2-диметоксietiламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-метиламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(бензилметиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-етиламінометил-3,5-диметилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-амінометил-4-етилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-амінометил-4-пропілциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид або
 ((3R,5S)-3,5-диметил-1-пропіламінометилциклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид.

14. Спосіб лікування неврологічних розладів, депресії, тривожного стану, панічного стану, манії, біполярних розладів, запальних захворювань, глаукоми, болю або шлунково-кишкових порушень, який включає стадію призначення терапевтично ефективної кількості сполуки формули IV пацієнту, що має в цьому потребу,



де:

R_1 - R_4 є воднем або C_1 - C_{10} -алкілом;

X є NR_5 ;

R_5 є воднем або C_1 - C_{10} -алкілом,

R_6 є C_1 - C_{10} -алкілом, бензилом, C_4 - C_9 -арил- C_1 - C_{10} -алкілом, в якому від 1 до 4 кільцевих атомів арилу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або N, C_1 - C_{10} -алкоксигрупою, C_3 - C_{10} -циклоалкілом, в якому від 1 до 3 атомів вуглецю можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 означає водень або C_1 - C_{10} -алкіл, алілом, C_1 - C_{10} -алкіл- C_3 - C_{10} -циклоалкілом, в якому від 1 до 3 кільцевих атомів циклоалкілу можуть бути замінені гетероатомом, вибраним з O, S або NR^2 , де R^2 має вказане вище значення, тризаміщеним галоген- C_1 - C_{10} -алкілом, причому вказані алкільні, алкоксильні, алільні групи можуть бути замінені, переважно 1-3 групами, вибраними з групи, яка включає NR^4R^5 , де R^4 та R^5 означають водень або C_1 - C_{10} -алкіл, незаміщений або заміщений феніл, тіо- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -алкокси, гідрокси, карбоксі, C_1 - C_6 -алкоксикарбоніл, галоген, нітрil, C_3 - C_{10} -циклоалкіл, та 5- або 6-членне карбоциклічне кільце або гетероциклічне кільце, що містить 1 або 2 гетероатоми, вибрані з групи, яка включає азот, який, у свою чергу, може бути заміщений C_1 - C_6 -алкілом або незаміщеним або заміщеним галогеном $(CH_2)_n$ фенілом, де n означає 1, 2 або 3, кисень та сірку; та причому вказані циклоалкільні групи можуть бути заміщені гідроксигрупою або кетогрупою, а вказані арильні та бензильні групи можуть бути заміщені 1, 2 або 3 групами, вибраними зі списку, що включає C_1 - C_{10} -алкіл, можливо заміщений так, як вказано вище, C_1 - C_{10} -алкоксил, можливо заміщений так, як вказано вище, тіогрупу, тіо- C_1 - C_{10} -алкіл, гідрокси, карбоніл, групу формули $-NR^4R^5$, $T(CH_2)_mQR^4$ або $T(CH_2)_mCO_2R^4$, де m означає від 1 до 6, T означає O, S, NR^4 , $N(O)R^4$, NR^4R^6 або CR^4R^5 , Q означає O, S, NR^5 , $N(O)R^5$ або NR^5R^6 , де R^4 та R^5 визначені так, як вказано вище, а R^6 означає незаміщений або заміщений так, як вказано вище, C_1 - C_{10} -алкіл;

і якщо R_1 - R_4 кожний є воднем, то R_6 не є метилом; або її фармацевтично прийнятною солі, ефіру або аміді.

Більше 14 мільйонів людей страждають діабетом у Сполучених Штатах. Усі хворі діабетом знаходяться в групі ризику з ускладненням на сітківці ока. Однак, хворі діабетом типу I, тобто інсулін-залежним діабетом, у набагато більшому ступені ризикують втратити зір, ніж хворі діабетом типу II, тобто інсулін-незалежним діабетом.

Ретинопатією називають будь-яке незапальне захворювання сітківки ока. Діабетичною ретинопатією називають будь-яку ретинопатію, пов'язану з будь-якою формою цукрового діабету.

Спочатку високий рівень глюкози в крові у діабетичних хворих викликає підвищення активності факторів росту в їх очах. Цей стан відомий як "попередня стадія діабетичної ретинопатії" і може привести до повного діабетичної ретинопатії при відсутності профілактичного лікування.

Ретинопатія охоплює більшість діабетичних хворих практично протягом усього їх життя. В да-

ний час це основна причина сліпоти у американців у віці від 20 до 74 років і приблизно близько третини діабетичних хворих у Сполучених Штатах страждає погіршенням зору. За рік у Сполучених Штатах виявляється до 40000 нових випадків сліпоти серед хворих діабетом (CDC, неопубліковані дані, 1993). Хворі діабетом у 25 разів частіше сліпнуть від ретинопатії, ніж інша популяція людей.

Протікання діабетичної ретинопатії включає двох-етапну непроліферативну стадію, що звичайно настає першою, і проліферативну стадію. Непроліферативна стадія, відома також як "фонова діабетична ретинопатія", характеризується стовщенням базальної мембрани, втратою ретинальних перичитів, порушеннями в капілярах, інтратинальними аневризмами, ретинальними крововиливами (також відомими як "плямисті" крововиливи), ретинальними набряками, зокрема, діабетичним макулярним набряком, закупоркою

капілярів, пов'язаною з ретинальною ішемією або поганою ретинальною перфузією (тобто, поганим розвитком судин), і м'якими або твердими ексудатами. Проліферативна стадія, що охоплює орієнтовно 700000 американців [Chen et al., J. Miss. State Med. Assoc. 36(7): 201-208 (1995)], характеризується неоваскулярними процесами і фіброваскулярним ростом (тобто, рубцювання, що включає гліальні і фіброзні елементи) з сітківки або оптичного нерва через внутрішню поверхню сітківки або диска або всередину порожнини склоподібного тіла.

Проліферативна стадія може привести до коревої або неоваскулярної глаукоми. Макулярний набряк може проявитися на будь-якій стадії і, разом з ускладненнями, пов'язаними з неоваскулярними процесами в сітківці, вони є двома основними ретинальними проблемами, що викликають втрату зору, пов'язану з діабетом.

Хоча патологічні стадії діабетичної ретинопатії добре описані, молекулярні поди, що лежать у її основі, зрозумілі не цілком. Почасти це пов'язано з тим, що хвороба розвивається протягом 10-30 років, у залежності від персональних особливостей.

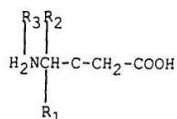
Строгий контроль глікемії і гіпертензії й офтальмологічні спостереження хворих діабетом дають результати в запобіганні захворювання. Сучасні способи лікування мають на увазі спостереження у офтальмолога, лазерну фотокоагуляцію і висічення склоподібного тіла.

Погрозу макулярного набряку або поразки макулярного центра лікують за допомогою фокальної макулярної фотокоагуляції. Це невеликі (50 мілімікрон у діаметрі) припікання низькоінтенсивним лазером у районах витоку на жовтій плямі (Murphy, Amer. Family Physician 51 (4): 785-796 (1995)). Якщо макулярний набряк виникає знову, може виникнути необхідність повторного лікування.

Пацієнтів з інтенсивною і дуже інтенсивною непроліферативною ретинопатією і пацієнтів з високим ризиком проліферативної ретинопатії або з ранньою або розвитою проліферативною ретинопатією лікують за допомогою розсіяної або панретинальної фотокоагуляції. Панретинальна фотокоагуляція має на увазі 1500 -2000 лазерних припікань, кожне в діаметрі близько 500 мілімікрон у середньопериферичній або периферичній частині сітківки (Murphy (1995), див. вище).

Щонайкраще описаним біохімічним механізмом розвитку мікросудинних ускладнень

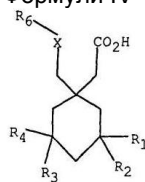
Сполуки Формули В:



або їх фармацевтично прийнятні солі, де R_1 означає лінійну або розгалужену алкілну групу з кількістю вуглецевих атомів від 1 до 6, феніл або циклоалкіл з кількістю вуглецевих атомів від 3 до 6; R_2 означає водень або метил; R_3 означає водень або карбоксил, відомі [по Патенту США №5563175] і виділеним з нього патентам. Ці патенти включені тут у вигляді посилань.

Даний винахід також стосується нових сполук

Формули IV



де

R_1 - R_4 є воднем або алкілом;

X означає NR_5 або O ;

R_5 означає водень або алкіл,

R_6 означає водень, алкіл, бензил, алканол, алкоксиалканол, арилалкіл, алкокси-групу, циклоалкіл, аліл, алкілциклоалкіл, тризаміщений галогеноалкіл, і якщо R_1 - R_4 кожний є воднем, то R_6 не є воднем або метилом; або його фармацевтично прийнятна сіль, ефір, проліки або амід. Як і сполуки Формул I, II і III, ці сполуки застосовні для профілактичного і терапевтичного лікування діабетичної ретинопатії, включаючи лікування попередньої стадії діабетичної ретинопатії, непроліферативної стадії діабетичної ретинопатії, і проліферативної стадії діабетичної ретинопатії.

Кращими є ті сполуки Формули IV, де R_2 і R_4 є воднем, а R_1 і R_3 є алкілом; R_2 і R_4 є воднем, а R_1 і R_3 є метилом; R_1 - R_4 є воднем; R_1 є алкілом, а R_2 - R_4 є воднем; R_1 є метилом, а R_2 - R_4 є воднем; R_5 є воднем; X є NR_6 ; X є O ; R_6 є алкілом; R_6 є бензилом; R_6 є ацетилом; R_6 є фенілалкілом; R_6 є циклоалкілом; R_6 є трифтороалкілом; R_6 є алкілциклоалкілом; R_6 є алкокси-групою і R_6 є алілом.

Іншими переважними сполуками Формули IV є ті, де R_2 і R_4 є воднем, а R_1 і R_3 є метилом; R_1 - R_4 є воднем; R_1 є метилом, а R_2 - R_4 є воднем; R_5 є воднем; X є NR_6 ; R_6 є алкілом; R_6 є бензилом; R_6 є ацетилом; R_6 є фенілалкілом; R_6 є циклоалкілом; R_6 є трифтороалкілом; R_6 є алкілциклоалкілом; R_6 є алкокси-групою і R_6 є алілом.

Особливо переважні сполуки вибрані з переліку:

(1-Апіламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

(1-Проп-2-ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

{1-[(2,2,2-Трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

{1-[(3,3,3-Трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(1-Апіламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(3,5-Диметил-1-проп-2-ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(3,5-Диметил-1-[(2,2,2-трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;

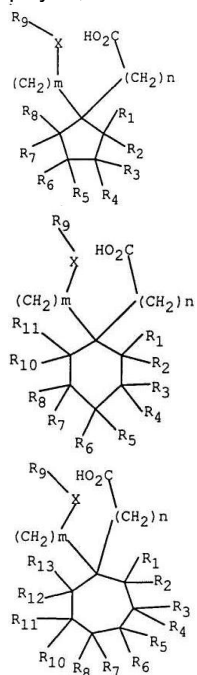
1 α ,3 β ,5 β -(3,5-Диметил-1-[(3,3,3-трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;

діабету є метаболічний шлях сорбіту. У метаболічному шляху сорбіту фермент альдозоредуктази каталізує перетворення глюкози в сорбіт і галактози в галактит. Альдозоредуктаза має низьку субстратну специфічність по відношенню до глюкози. Тому, коли концентрація глюкози нормальна, цей метаболічний шлях неактивний. При гіперглікемії він стає активним. Активація метаболічного шляху сорбіту важлива, наприклад, для

ретиальних перичитів, яким не потрібен інсулін для поглинання глюкози. Також клітини капілярів сітківки показують вміст істотної кількості альдозо-редуктази (Ferris, Hospital Practice: 79-89 (May 15, 1993)).

Беручи до уваги поширеність діабетичної ретинопатії, стає очевидною необхідність ефективного профілактичного і терапевтичного лікування цього захворювання. Тому основним об'єктом даного винаходу є спосіб профілактичного і терапевтичного лікування діабетичної ретинопатії, включаючи лікування попередньої стадії діабетичної ретинопатії, непроліферативної стадії діабетичної ретинопатії, і проліферативної стадії діабетичної ретинопатії. Цей і інші об'єкти даного винаходу стануть очевидними з докладного опису, приведенного нижче.

Даний винахід стосується способу профілактичного і терапевтичного лікування діабетичної ретинопатії, включаючи лікування попередньої стадії діабетичної ретинопатії, непроліферативної стадії діабетичної ретинопатії, і проліферативної стадії діабетичної ретинопатії. Спосіб включає призначення інгібітора метаболічних шляхів, контрольованих амінотрансферазами, залежними від амінокислот з розгалуженим ланцюгом. Переважно, інгібітор метаболічних шляхів, контрольованих амінотрансферазами, залежними від амінокислот з розгалуженим ланцюгом (BCAT) є сполукою формул I, II і/або III:



де:

$R_9 \in H$; алкілом; циклоалкілом; заміщеним алкілом, що містить галоген, аміном, алкокси-групою, циклоалкілом або гідроксиллом; алілом; алкінілом; алканойлом; алкоксиалканойлом; сульфонілом; фенілом; бензилом або аралкілом;

m і $n \in$ незалежними цілими числами від 1 до 3;

R_1-R_8 і $R_{10}-R_{14} \in$ незалежно H , алкілом або заміщеним алкілом; а

$X = NR_{14}$, O або S

або його фармацевтично прийнятною сіллю, ефіром, проліками або амідом.

Ця сполука може мати один або більше асиметричних атомів вуглецю і кожний з центрів асиметрії може бути рацемічним (R і S) або хіральним (R або S).

Кращими сполуками формул I, II або III є ті, де m і $n \in 1$; $X \in NR_{14}$; $R_9 \in H$; $R_4 \in$ метилом; R_4 і $R_5 \in$ метилом; $R_8 \in$ метилом; $R_{10} \in$ метилом; R_7 і $R_8 \in$ метилом; R_4 і $R_8 \in$ метилом; R_1-R_8 і $R_{10}-R_{13} \in H$; $R_9 \in$ алкілом; $R_9 \in$ бензилом; $R_{14} \in$ алкілом; $R_9 \in$ аралкілом; $R_9 \in$ циклоалкілом; $R_1-R_8 \in H$; R_1-R_8 і $R_{10}-R_{11} \in H$; R_1-R_2 і $R_7-R_8 \in H$ або $R_2 \in$ метилом.

Більш кращими сполуками є сполуки формули II, де $R_3 \in$ алкілом, R_1-R_2 і R_4-R_{11} і $R_{14} \in$ воднем, m і $n \in 1$, а $X \in NR_{14}$; R_3 і $R_{11} \in$ алкілом, R_1-R_2 і R_4-R_{10} і $R_{14} \in$ воднем, m і $n \in 1$, а $X \in NR_{14}$; R_3 і $R_{11} \in$ алкілом, R_1-R_2 і $R_4-R_{10} \in$ воднем, m і $n \in 1$, а $X \in NR_{14}$; R_3 і $R_{11} \in$ алкілом, R_1-R_2 і R_4-R_{10} і $R_{14} \in$ воднем, m і $n \in 1$, $R_9 \in$ алкілом, а $X \in NR_{14}$; і R_1-R_{11} і $R_{14} \in$ воднем, m і $n \in 1$, а $X \in O$.

Особливо кращі сполуки вивибрані з:

(1-Аліламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

(1-Проп-2-ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

{1-[(2,2,2-Трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

{1-[(3,3,3-Трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(1-Аліламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(3,5-Диметил-1-проп-2-

ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -{3,5-Диметил-1-[(2,2,2-трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -{3,5-Диметил-1-[(3,3,3-трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-1-Аліламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-3-Метил-1-проп-2-

ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(2,2,2-трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(3,3,3-трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(4,4,4-трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -{3,5-Диметил-1-[(4,4,4-трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -(1-[(Циклопропілметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-1-[(Циклопропілметил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-3-Метил-1-метиламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-1-Етиламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;

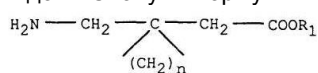
транс-((1R,3R)-3-Метил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-1-Бутиламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((1R,3R)-1-Гідроксиметил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;

1 α ,3 β ,5 β -{1-[(Гідроксиметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтова кислота;

((3R,5S)-3,5-Диметил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 [(1R,3R)-1-(Бензиламіно-метил)-3-метил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {(1R,3R)-1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 або
 ((1R,3R)-3-Метил-1-метиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 Кілька сполук, описуваних формулами I, II і III відомі. Сполуки Формули A:



A

де R₁ є воднем або нижчим алкільним радикалом, а n означає 4, 5 або 6, відомі [з Патенту США №4024175] і виділеного з нього [Патенту США №4087544]. Описані там сполуки мають такі якості: захисний ефект від спазмів, викликаних тіосемікарбазидом, захисна дія від кардіазольних спазмів, церебральних захворювань, епілепсії, нападів слабкості, гіпокінезії і черепних травм, поліпшення церебральних функцій. Ці сполуки корисні для геріатричних пацієнтів. Згадані патенти включені тут у вигляді посилань.

транс-((1R,3R)-1-Аліламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-проп-2-ініламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(2,2,2-трифтор-етиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(3,3,3-трифтор-пропіламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-[(4,4,4-трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтова кислота;
 1α,3β,5β-{3,5-Диметил-1-[(4,4,4-трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;
 1α,3β,5β-{1-[(Циклопропілметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-1-[(Циклопропілметил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-метиламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-1-Етиламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-3-Метил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-1-Бутиламінометил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;
 транс-((1R,3R)-1-Гідроксиметил-3-метил-циклогексил)-оцтова кислота;
 1α,3β,5β-{1-[(Гідроксиметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтова кислота;
 1α,3β,5β-{1-Амінометил-3,5-діетил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{3,5-Диметил-1-пропіламінометил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{1-Етиламінометил-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{1-Бензиламіно-метил}-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{1-Диметиламінометил-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{1-Бутиламінометил-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-3,5-

диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{3,5-Диметил-1-метиламінометил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-[1-(Ацетиламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтова кислота;
 1α,3β,5β-[1-(Ізобутиламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-[3,5-Диметил-1-(фенетиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-{3,5-Диметил-1-[(3-феніл-пропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Циклобутилметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 1α,3β,5β-[1-(Ізопропіламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(2-Метил-бутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(4,4,4-Трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-Етиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Циклопропілметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(2-Гідрокси-1-метил-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Ізобутиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-Пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Ізопропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 (1-Циклогексиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Бензиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((1R,3R)-3-Метил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Циклопентилметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(Циклогексилметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 {1-[(трет-Бутоксикарбоніламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;
 {1-[(Ацетиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтова кислота;
 ((3R,5S)-1-Циклобутиламінометил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-3,5-Диметил-1-[(2-метил-бутиламіно)-метил]-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-[(2-Гідрокси-1-метил-етиламіно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-[(2,2-Диметокси-етиламіно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-[(Циклопентилметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;
 ((3R,5S)-1-[(Циклогексилметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-1-Циклогексиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-1-Карбоксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтова кислота;

транс-((3R,5S)-1-Гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

цис-((3R,5S)-1-Гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-Диметиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-Бутиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(2,2-Диметокси-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-Метиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

[1-[(Фенетиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{1-[(3-Феніл-пропіл-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-1-Гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти натрієва сіль;

((3R,5S)-1-Етиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-Амінометил-4-етил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

(1-Амінометил-4-пропіл-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

((3R,5S)-3,5-Диметил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

[(1R,3R)-1-(Бензиламіно-метил)-3-метил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид;

{(1R,3R)-1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид;

i

((1R,3R)-3-Метил-1-метиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид;

Даний винахід також стосується фармацевтичної композиції, яка включає терапевтично ефективну кількість одного або більше сполук Формули IV і фармацевтично прийнятний носій.

Сполуки Формули II, такі як габапентин, застосовні для лікування різних станів, таких як нейродегенеративні розлади [US 5084479], депресія [US 5025035], тривожний/панічний стан [US 5792796], манії/біполярні розлади [US 5510381], антизапальні захворювання [WO 98 158641], шлунково-кишкові порушення [WO 99 108670], глаукома і біль. Оскільки сполуки Формули II і Формули IV діють через вплив на метаболічні шляхи BCAT і синтез глутамату, що залучені в усі згадані вище стани, сполуки Формули IV також застосовні для лікування цих станів. Таким чином, дана сполука також стосується застосування сполук Формули IV для лікування кожного або більше ніж одного нейродегенеративних розладів (включаючи, але не обмежуючи цим, бічний аміотрофічний склероз, хворобу Паркінсона і хворобу Альцгеймера), депресії, тривожного/панічного стану, манії/біполярних розладів, антизапальних захворювань, глаукоми, болю або шлунково-кишкових порушень.

Фіг.1. Схема, що демонструє циркуляцію BCAT

у сітківці. Виділено нормальні шляхи, які* показують, як амінокислоти з розгалуженим ланцюгом у глії можуть трансамінувати α -кетоглутарат з утворенням глутамату. Продукт ВСКА дифундує через інтерстиціум (показаний сірим) до нейронів, де він знову перетворюється в амінокислоту з розгалуженим ланцюгом шляхом трансамінування глутаматом за допомогою BCATc. Аббревіатури є такими: BCAA - амінокислота з розгалуженим ланцюгом; GLU - глутамат, GLN - глутамін; GLNase - глутамінуза; pyr - піруват; PC - піруват-карбоксилаза; α KG - α -кетоглутарат; BCATm - мітохондріальна BCAT; BCATc - цитозольна BCAT; ВСКА - кетокислота з розгалуженим ланцюгом; GDH - глутаматдегідрогеназа.

Фіг.2. Дія концентрації пірувату на включення H^{14}CO_3 у сумарний глутамат/глутамін (A) і сумарний піруват/лактат (B) у сітківці *ex vivo*. Препарат гемі-ретину інкубували при 37°C у стандартних умовах з 25mM H^{14}CO_3 протягом 20 хвилин. Пірувату в середовищі було або 0.2, або 5мМ. Зазначено середні величини з урахуванням (+/-) стандартної погрешності середнього (СПС, $n=4$, $*p<0.05$). Скорочення: gln+glu означає сумарний мічений глутамін/глутамат; pyr+lact означає сумарний мічений піруват/лактат.

Фіг.3. Експресія ізоферментів BCAT у сітківці пацюка. Екстракція з тканини, електрофорез у SDS-поліакриламідному гелі (SDS-ПААГ) і імуноблотинг проводили як описано, використовуючи набір для детектування ECL. Використовували імуноафінні очищені анти-BCATc-пептидні антитіла пацюка (1:1000) і анти-BCATt антитіла людини (1:1000).

Фіг.4. Вплив габапентину (ГБП) і амінокислот з розгалуженим ланцюгом на включення H^{14}CO_3 у глутамат/глутамін у сітківці *ex vivo*. Половину сітківки інкубували при 37°C у стандартних умовах з 25mM H^{14}CO_3 і 0.2мМ пірувату протягом 20 хвилин. У деяких випадках в інкубаційне середовище включали габапентин (1мМ), в інших - ГБП (1мМ) і всі три розгалужені амінокислоти по 0.2мМ кожної. Зазначено середні величини +/-СПС HCO_3 , включеного в глутамат/глутамін за 20 хвилин ($n=4$, $*p<0.001$, $**p<0.01$). Скорочення: gln+glu означає сумарний мічений глутамін/глутамат.

Фіг.5. Вплив концентрації габапентину (ГБП) на включення H^{14}CO_3 у глутамат і глутамін у сітківці *ex vivo*. Умови подібні з описаними до Фіг.4, за винятком концентрації ГБП. Зазначено середні величини +/-СПС ($n=6-7$, $*p<0.05$). Скорочення: GLN+GLU означає сумарний глутамін/глутамат; LACT+TCA означає сумарну величину лактату і інтермедіатів циклу TCA.

Даний винахід заснований на спостереженні, що внутрішньоочна ін'єкція глутамату викликає втрату кліток ганглію, що звичайно відбувається на ранніх стадіях діабетичної ретинопатії (Vorwerk et al. IOVS 37:1618-1624 (1996)), і що інгібітор метаболічного шляху аміотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом, такий як габапентин, ефективно інгібує синтез глутамату, запобігаючи, таким чином, діабетичну ретинопатію. Згідно з цим, даний винахід стосується способу профілактичного і терапевтичного лікування діабетичної ретинопатії, включаючи лікування по-

передньої стадії діабетичної ретинопатії, непроліферативну стадію діабетичної ретинопатії і проліферативну стадію діабетичної ретинопатії. Під "профілактичним" лікуванням мається на увазі захист цілком або частково від діабетичної ретинопатії, особливо від макулярного діабетичного набряку. Під "терапевтичним" лікуванням мається на увазі подолання наслідків діабетичної ретинопатії самої по собі і захист цілком або частково від подальшого розвитку діабетичної ретинопатії, зокрема, від макулярного діабетичного набряку.

Спосіб включає призначення інгібітора метаболічних шляхів амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом, у кількості, достатній для лікування сітківки від ретинопатії профілактично або терапевтично. Будь-який інгібітор метаболічних шляхів амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом може бути виокремлений з способу даного винаходу, якщо він безпечний і ефективний. Тут термін "інгібітор амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом (BCAT)" використовується по відношенню до таких сполук і охоплює всі сполуки, що діють на метаболічні шляхи амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом на будь-яких і на всіх точках метаболічного шляху.

Переважно, інгібітор BCAT є сполукою Формул I, II і III, як описано вище, або фармацевтично прийнятними аналогами, що інгібують метаболічні шляхи BCAT, або їх проліками, або їх фармацевтично прийнятними солями, ефірами або амідними з них.

Якщо не обговорено особливо, подальші визначення справедливі для всього тексту опису.

"Алкіл" означає лінійний або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить від 1 до 10 вуглецевих атомів (якщо не обговорено особливо) і включає, наприклад, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, терт-бутил, н-пентил, ізопентил, н-гексил, і їм подібні.

"Галоген" означає фтор-, хлор-, бром- і йод-.

"Алкеніл" означає лінійний або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить від 2 до 6 вуглецевих атомів і один подвійний зв'язок, і включає етеніл, 3-бутен-1-іл, 2-етенілбутил, 3-гексен-1-іл і їм подібні.

"Алкініл" означає лінійний або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить від 2 до 6 вуглецевих атомів і один потрійний зв'язок, і включає етиніл, 3-бутин-1-іл, пропініл, 2-бутин-1-іл, 3-пентин-1-іл і їм подібні.

"Циклоалкіл" означає моноциклічну або поліциклічну вуглеводневу групу, таку як циклопропіл, циклогептил, циклооктил, циклодецил, циклобутил, адамантил, норпінаніл, декалініл, норборніл, циклогексил, і циклопентил. Такі групи можуть бути заміщені гідроксилом, кето-групою і ним подібними. Термін також включає кільця, в яких від 1 до 3 гетероатомів заміщають атоми вуглецю. Такі групи називають "гетероциклідами", які є циклоалкільними групами, що несуть як мінімум один гетероатом, вибраний із O, S або NR₂, прикладом яких є заміщені або незаміщені оксираніл, піролідиніл, піперидил, тетрагідрофуран, піперазиніл, ацилпіперазиніл, піролідиніл і морфолін.

"Алкокси-група" відноситься до алкільних груп, зазначених вище, в'язаних через кисень, приклади яких включають метокси-, етокси-, ізопропокси-, трет-бутокси-групи і їм подібні. Крім того, термін алкокси-група відноситься до поліефірів, таких як -O-(CH₂)₂-O-CH₃, і їм подібним.

"Алканойл" є алкілом, що зв'язується через карбоніл, тобто C₁-C₅-C(O)-. Такі групи включають форміл, ацетил, пропіоніл, бутирил і ізобутирил.

"Ацил" є алкільною або арильною (Ar) групою, яка сполучається через карбоніл, тобто, R-C(O)-. Наприклад, ацил включає алканойл з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, включаючи заміщений алканойл, де алкільна частина може бути заміщена NR⁴R⁵ або карбоксильною або гетероциклічною групою. Типові ацильні групи включають ацетил, бензойл і їм подібні.

Алкільні, алкенільні, алкокси- і алкінільні групи, описані вище, можуть бути необов'язково заміщені переважно 1-3 групами, вибраними з групи, що включає NR⁴R⁵, феніл, заміщений феніл, тіоалкіл з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, алкокси-групою з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, гідроксил, карбоксил, алкоксикарбоніл з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, гало-групу, нітрил, циклоалкіл, і 5- або 6-членне карбоциклічне кільце або гетероциклічне кільце, що містить 1 або 2 гетероатоми, вибраний з групи, що включає азот, заміщений азот, кисень і сірку.

"Заміщений азот" означає азот, що несе алкіл з числом вуглецевих атомів від 1 до 6 або (CH₂)_nPh, де n означає 1, 2 або 3. Пергало- або полігало- заміни також включені.

Приклади заміщених алкільних груп включають 2-аміноетил, пентахлоретил, трифторметил, 2-діетиламіноетил, етоксикарбонілметил, 3-фенілбутил, метанілсульфанілметил, метоксиметил, 3-гідроксипентил, 2-карбоксибутил, 4-хлорбутил, 3-циклопропілпропіл, пентафторетил, 3-морфолінпропіл, піперазинілметил і 2-(4-метилпіперазиніл)етил.

Приклади заміщених алкінільних груп включають 2-метоксиетиніл, 2-етилсульфанілетиніл, 4-(1-піперазиніл)-3-(бутиніл), 3-феніл-5-гексиніл, 3-діетиламіно-3-бутиніл, 4-хлор-3-бутиніл, 4-циклобутил-4-гексеніл і їм подібні.

Типові заміщені алкокси-групи включають амінометокси-групу, трифторметокси-групу, 2-діетиламіноетокси-групу, 2-етоксикарбонілетокси-групу, 3-гідроксипропокси-групу, 6-карбоксигексилокси-групу і їм подібні.

Крім того, приклади заміщених алкільних, алкенільних і алкінільних груп включають диметиламінометил, карбоксиметил, 4-диметиламіно-3-бутен-1-іл, 5-етилметиламіно-3-пентин-1-іл, 4-морфолінбутил, 4-тетрагідропіридинілбутил, 3-імідазолін-1-ілпропіл, 4-тетрагідротіазол-3-ілбутил, фенілметил, 3-хлорфенілметил і їм подібні.

Терміни "арил" і "Ar" стосуються незаміщених і заміщених ароматичних груп. Гетероарильні групи містять від 4 до 9 кільцевих атомів, від 1 до 4 з яких незалежно вибрані з переліку, що включає O, S і N. Кращі гетероарильні групи містять 1 або 2 гетероатоми в 5- або 6-членному ароматичному кільці. Моно- і бициклічні ароматичні кільцеві системи включені у визначення арилу і гетероарилу.

Типові арильні і гетероарильні групи включають феніл, 3-хлорфеніл, 2,6-дибромфеніл, піридил, 3-метилпіридил, бензотієніл, 2,4,6-трибромфеніл, 4-етилбензотієніл, фураніл, 3,4-діетилфураніл, нафтил, 4,7-дихлорнафтил, пірол, піразол, імідазол, тіазол і їм подібні.

Кращими Ag-групами є феніл і феніл, заміщений 1, 2 або 3 групами, незалежно вибраними з переліку, що включає алкіл, алкокси-групу, тіо-групу, тіоалкіл, гідроксил, карбоніл, аміногрупу формули $-NR^4R^5$ і $T(CH_2)_mQR^4$ або $T(CH_2)_mCO_2R^4$, де m означає від 1 до 6, T означає O, S, NR^4 , $N(O)R^4$, NR^4R^6 або CR^4R^5 , Q означає O, S, NR^5 , $N(O)R^5$ або NR^5R^A де R^4 і R^5 визначені як вище, а R^A означає алкіл або заміщений алкіл, наприклад, метил, трихлоретил, дифенілметил і їм подібні. Алкільні й алкокси-групи можуть бути заміщені як визначено вище. Наприклад, типовими групами є карбоксиалкіл, алкоксикарбоніалкіл, гідроксиалкіл, гідроксиалкокси-група й алкоксиалкіл.

Символ "-" означає зв'язок.

Термін "пацієнт" означає всі тварини, включаючи людей. Приклади пацієнтів включають людей, корів, собак, кішок, кіз, овець і свиней.

Сполуки даного винаходу можуть існувати у несольватованих формах, а також у сольватованих формах, включаючи гідратовану форму. У загальному випадку сольватовані форми, включаючи гідратовану форму, еквівалентні несольватованим формам і охоплюються межами даного винаходу.

Деякі сполуки даного винаходу містять один або декілька хіральних центрів, і кожен центр може існувати в конфігурації R (D) або S (L). Даний винахід включає всі енантіомерні і епімерні форми, а також їх суміші.

Сполуки Формул I, II і III здатні до подальшого утворення як фармацевтично прийнятних аналогів, які включають солі, ефіри, аміді, так і проліків. У даному описі термін "фармацевтично прийнятні солі, ефіри, аміді і проліки" стосуються тих карбоксилатних солей, солей сполуки амінокислот, ефірів, амідів і проліків сполук даного винаходу, які, у межах відомих медицині даних, є застосовними для використання в контакт з тканинами пацієнтів, не маючи небажану токсичну, подразливу або алергійну дію і подібні ефекти, відповідають необхідному співвідношенню переваг і ризику й ефективні в їх використанні, а також, коли це можливо, цвітер-іонні форми сполук даного винаходу. Термін "солі" стосуються відносно нетоксичних неорганічних і органічних солей сполук даного винаходу. Ці солі можуть бути одержані *in situ* в ході остаточного виділення й очищення сполук або у ході окремих реакцій очищених сполук у їх вільноосновній формі з відповідними органічними або неорганічними кислотами з подальшим очищенням, і включають, але не обмежуються цим, солі сполуки кислот і/або основні солі, розчинники і N-окисли сполук Формул I, II і III. Цей винахід також включає фармацевтичні рецептури, що включають сполуки Формул I, II або III разом з фармацевтично прийнятним носієм, розріджувачем або наповнювачем. Усі ці форми охоплюються межами даного винаходу.

Фармацевтично прийнятні солі сполуки кислот сполук Формул I, II і III включають солі неорганіч-

них солей, таких як соляна, азотна, фосфорна, сірчана, бромистоводнева. йодистоводнева, фосфориста і їм подібні, а також солі органічних кислот, таких як аліфатичних моно- і дикарбонових кислот, феніл-заміщених алканових кислот, гідроксиалканових кислот, алкандіоевих кислот, ароматичних кислот, аліфатичних і ароматичних сульфонових кислот і т.д. Такі солі, відповідно, включають сульфати, піросульфати, бісульфати, сульфіти, бісульфіти, нітрати, фосфати, моногідрофосфати, дигідрофосфати, метафосфати, пірофосфати, хлориди, броміди, йодиди, ацетати, пропіонати, каприлати, ізобутирати, оксалати, малонати, сукцинати, суберати, себацинати, фумарати, малеати, манделати, бензоати, хлорбензоати, метилбензоати, динітробензоати, фталати, бензолсульфонати, толуолсульфонати, фенілацетати, цитрати, лактати, тартрати, метансульфонати і їм подібні. Розглядаються також солі амінокислот, такі як аргинати, глюконати, галактуронати і їм подібні, [див., наприклад, *berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. of Pharmaceutical Science, 1977; 66:1-19*].

Солі сполуки кислот основних сполук одержують шляхом проведення реакції вільноосновної форми з достатньою кількістю бажаної кислоти з одержанням солі відомим способом. Вільноосновну форму можна регенерувати шляхом проведення реакції сольової форми з основою і виділенням вільної основи відомим способом. Вільноосновна форма іноді відрізняється від відповідної сольової форми за деякими фізичними властивостями, такими як розчинність у полярних розчинниках, але якщо ні, те такі солі є еквівалентними їх відповідній вільноосновним формам по відношенню до цілей даного винаходу.

Фармацевтично прийнятні солі сполуки основ утворюються з металами або амінами, такими як гідроксиди лужних або лужноземельних металів, або органічними амінами. Прикладами металів, використовуваних як катіони, є натрій, калій, магній, кальцій і їм подібні. Прикладами застосовних амінів є N,N'-добензилетилендіамін, хлорпрокаїн, холін, діетаноламін, етилендіамін, N-метилглюкамін і прокаїн, див., наприклад, *Berge et al.* вище.

Солі сполуки основ кислих сполук одержують шляхом реакції вільнокислотної форми з достатньою кількістю бажаної основи з одержанням солі відомим способом. Вільнокислотну форму можна регенерувати шляхом реакції сольової форми з кислотою і виділенням вільної кислоти відомим способом. Вільнокислотна форма іноді відрізняється від відповідної сольової форми за деякими фізичними властивостями, такими як розчинність у полярних розчинниках, але якщо ні, то такі солі є еквівалентними їх відповідній вільнокислотним формам щодо цілей даного винаходу.

Приклади фармацевтично прийнятних нетоксичних ефірів сполук даного винаходу включають алкільні ефіри з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, де алкільна група є лінійним або розгалуженим ланцюгом. Прийнятні ефіри також включають циклоалкільні ефіри з числом вуглецевих атомів від 5 до 7, а також арилалкільні ефіри, такі як, але не обмежуючи цим, бензил. Кращі алкільні ефіри з

числом вуглецевих атомів від 1 до 4. Ефіри сполук даного винаходу можуть бути одержані згідно з відомими способами.

Приклади фармацевтично прийнятних нетоксичних амідів сполук даного винаходу включають аміди, одержані з аміаку, первинні алкільні аміни з числом вуглецевих атомів від 1 до 6 і вторинні діалкільні аміни з числом вуглецевих атомів від 1 до 6, де алкільні групи є лінійними або розгалуженими ланцюгами. У випадку вторинних амінів, аміни також можуть бути у формі 5- або 6-членного гетероциклу, що містить 1 атом азоту. Амідів, одержуваних з аміаку, первинні алкільні аміни з числом вуглецевих атомів від 1 до 3 і діалкільні вторинні аміни з числом вуглецевих атомів від 1 до 2 є кращими. Амідів сполук даного винаходу можуть бути одержані відомими способами.

Термін "проліки" стосується сполук, що швидко трансформуються *in vivo* у продукт, що відповідає згаданому вище Формулам, наприклад, шляхом гідролізу в крові. Докладне обговорення проблеми можна знайти [в T. Higuchi and V. Stella, "Pro-drugs as novel Delivery Systems", Vol 14 з A.C.S. Symposium Series, а також у Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. by Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987], обидва джерела включені в даний опис у вигляді посилання. У загальному випадку проліки являють собою ліки, які були хімічно модифіковані і можуть бути біологічно неактивними на місці дії, але які можуть бути деградовані або модифіковані в ході одного або більше ферментативних або інших процесів *in vivo* у батьківську біоактивну форму.

Терапевтично ефективною кількістю є кількість сполуки Формул I, II або III, що, при призначенні його пацієнту, позитивно впливає на симптоми захворювання.

Інгібітор BCAT, який переважно є сполукою Формул I, II і/або III, які інгібують метаболічні шляхи BCAT, аналоги сполук Формул I, II і/або III, які інгібують метаболічні шляхи BCAT, проліки сполук Формул I, II і/або III, або фармацевтично прийнятні солі кожного з вищезгаданих варіантів можуть бути призначені у відповідності зі способом даного винаходу будь-яким застосовним шляхом. Застосовні шляхи призначення включають системні, такі як пероральний або за допомогою ін'єкції, місцеві, внутрішньоочний, навколоочний (наприклад, субтенональний), субкон'юнктивний, субретинальний, надхороїдальний і ретробульбарний. Вибір шляху, яким призначається інгібітор BCAT, частково залежить від того, чи здійснюється профілактичне або терапевтичне лікування ретинопатії. Для терапевтичного лікування вибір шляху залежить від причини виникнення ретинопатії.

Наприклад, оскільки відомо, що основною причиною ретинопатії є діабет, інгібітор BCAT може бути призначений профілактично, як тільки буде встановлена попередня стадія діабетичної ретинопатії. Для профілактичного лікування ретинопатії, яка виникає в результаті діабету, краще системне призначення інгібітора BCAT, наприклад, перорально або за допомогою ін'єкції. Для терапевтичного лікування непроліферативної діабетичної ретинопатії інгібітор BCAT може бути

призначений системно, наприклад, перорально, або шляхом ін'єкції, або внутрішньоочним шляхом. Проліферативна діабетична ретинопатія може бути піддана терапевтичному лікуванню призначенням інгібітора BCAT внутрішньоочним шляхом, місцевим призначенням, субкон'юнктивним або навколоочним шляхом (наприклад, субтенонально). Для профілактики або терапевтичного лікування ретинопатії до, у ході або після хірургічного видалення з ока рубцевої тканини, що виникає в результаті неоваскуляризації на проліферативній стадії діабетичної ретинопатії, інгібітор BCAT переважно призначається внутрішньоочним, місцевим, субкон'юнктивним або навколоочним (наприклад, субтенональним) шляхами.

Інгібітор BCAT переважно призначають якомога швидше після того, як було встановлено, що тварина, така як свавець, зокрема людина, знаходиться в групі ризику по ретинопатії (профілактичне лікування), або коли ретинопатія вже почала свій розвиток (терапевтичне лікування). Частково лікування буде залежати від конкретного використовуваного інгібітора BCAT, кількості призначуваного інгібітора BCAT, способу призначення, причини і шляху розвитку ретинопатії.

Фахівцям очевидно, що існують придатні шляхи призначення інгібітора BCAT, застосовні для способу даного винаходу. Для призначення конкретного інгібітора BCAT можуть бути використані кілька шляхів призначення, але один зі шляхів завжди забезпечує більш швидко й ефективну реакцію, ніж інший. Тому описані шляхи призначення є чисто демонстраційними і не обмежують собою всі можливі шляхи.

Доза, призначувана тварині, зокрема людині, згідно з даним винаходом повинна бути достатньою для досягнення бажаного ефекту у тварини у прийнятний термін. Фахівцю очевидно, що дозування залежить від різних факторів, включаючи силу конкретного використовуваного інгібітора BCAT, вік, вид, умови протікання або фаза хвороби і вага тіла тварини, а також очікувана або фактична площа поразки сітківки. Величина дозування також буде визначатися шляхом, частотою і тривалістю призначення, а також наявністю, природою і значимістю небажаних побічних явищ, які можуть супроводжувати призначення деяких інгібіторів BCAT і бажаним фізіологічним ефектом. Фахівцю очевидно, що різні умови протікання або фаза хвороби, зокрема хронічні умови або фаза, можуть вимагати тривалого лікування, що включає чисельні призначення.

Застосовні дози і режим дозування можуть бути встановлені за допомогою звичайних методик, відомих фахівцям. У загальному випадку лікування починають з невеликих доз, менших, ніж оптимальні. Потім дози потроху збільшують доти, поки не буде досягнутий оптимальний у даних обставинах ефект. Спосіб даного винаходу в загальному випадку включає призначення від приблизно 1мг/кг/день до приблизно 100мг/кг/день, краще від приблизно 15мг/кг/день до приблизно 50мг/кг/день при системному призначенні. Типове внутрішньоочне призначення буде включати від приблизно 0.1мг до приблизно 5мг повної дози, краще від приблизно 0.5мг до приблизно 1мг повної дози.

Краща концентрація для місцевого призначення складає 100мм.

Композиції для використання в способі даного винаходу переважно включають фармацевтично прийнятний наповнювач і кількість інгібітора BCAT, достатню для лікування ретинопатії профілактично або терапевтично. Носієм може бути кожен із звичайно використовуваних, їх застосування обмежується лише фізико-хімічними міркуваннями, такими як розчинність, реакційна здатність по відношенню до діючого компонента і шляху призначення. Фахівцю очевидно, що крім описаних нижче фармацевтичних композицій, інгібітор BCAT може бути використаний у полімерних композиціях, комплексах включення, таких як циклодекстринові комплекси включення, ліпосомах, мікросферах, мікрокапсулах і їм подібних [див., наприклад, Патенти США NN 4997652, 5185152 і 5718922]

Інгібітор BCAT може бути використаний у рецептурах як сіль сполуки фармацевтично прийнятної кислоти. Приклади солей сполуки фармацевтично прийнятних кислот для використання у фармацевтичних композиціях включають солі, одержані з мінеральних кислот, таких як соляна, бромистоводнева, фосфорна, метафосфорна, азотна і сірчана кислоти, і органічних кислот, таких як тартарова, оцтова, лимонна, яблучна, молочна, фумарова, бензойна, гліколева, глюконова, бурштинова й арилсульфонова, наприклад, п-толуолсульфонова. Фармацевтично прийнятні наповнювачі, описувані тут, наприклад, ад'юванти, носії або розріджувачі, добре відомі фахівцям і широко використовуються в побуті. Краще, щоб носій був хімічно інертним по відношенню до інгібітора BCAT і не здійснював шкідливих побічних ефектів або токсичної дії в умовах застосування.

Вибір наповнювача частково визначається конкретним інгібітором BCAT, а також конкретним шляхом призначення композиції. Відповідно, існує широка різноманітність застосовних рецептур фармацевтичних композицій даного винаходу. Наступні рецептури є чисто демонстраційними і не обмежують собою можливі варіанти.

Рецептури для ін'єкцій, у числі інших, є кращими для способу даного винаходу. Вимоги до фармацевтично ефективних носіїв для композицій, що ін'єктуються, добре відомі фахівцям [див. *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers, eds., pages 238-250 (1982), і *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4th ed., pages 622-630 (1986)]. Переважно, щоб такі композиції, що ін'єктуються, призначалися внутрішньом'язово, внутрішньовенно або внутрішньочеревинно.

Рецептури місцевого призначення добре відомі фахівцям. Такі рецептури застосовні в контексті даного винаходу для нанесення на шкіру. Застосування пов'язок, рогіркових щитків [див., наприклад, патент США №5185152] і офтальмологічних розчинів [див., наприклад, патент США №5710182] і мазей, наприклад, очних крапель, також добре відомі.

Рецептури, застосовні для призначення перорально, можуть включати (а) рідкі розчини, такі як ефективна кількість сполуки, розчиненої в розріджувачі, такому як вода, сольовий розчин або

апельсиновий сік; (б) капсули, саше, таблетки, коржі і льодяники, які містять певну кількість активного компонента у твердому вигляді або в гранулах; (в) порошки; (г) суспензії у відповідній рідині і (е) емульсії. Рідкі рецептури можуть включати розріджувачі, такі як вода і спирти, наприклад, етанол, бензиловий спирт і поліетиленові спирти, з додаванням або без додавання фармацевтично прийнятної поверхнево-активної речовини, суспендуючого засобу або емульгуючого засобу. Капсульні форми можуть являти собою звичайні тверді або м'які оболонки, заповнені, наприклад, поверхнево-активними речовинами, мастилами й інертними наповнювачами, такими як лактоза, сахароза, фосфат кальцію і кукурудзяний крохмаль. Таблеткові форми можуть включати саму по собі або в комбінації лактозу, сахарозу, маніт, кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль, альгінову кислоту, мікрокристалічну целюлозу, гуміарабік, желатин, гуарову смолу, колоїдний окис кремнію, натрієву кроскармелозу, тальк, стеарат магнію, стеарат кальцію, стеарат цинку, стеаринову кислоту й інші наповнювачі, барвники, розріджувачі, буферні засоби, розрихлювачі, зволожувачі, консерванти, смакові добавки і фармакологічно сумісні наповнювачі. Коржі можуть складатися з активного компонента і смакової добавки, звичайно сахарози, і гуміарабіку або трагаканту; пастилки включають активний компонент в інертній основі, такий як желатин і гліцерин, або сахароза і гуміарабік; емульсії, гелі і їм подібні форми містять крім активного компонента відомі фахівцям наповнювачі.

Ефективність орального призначення ліків залежить від ефективності його переносу через слизовий епітелій і його стабільності у внутрішньопечінковій циркуляції. Ліки, ефективні при парентеральному призначенні, але менш ефективні при пероральному, або чий термін напівжиття в плазмі дуже невеликий, можуть бути хімічно модифіковані у форму пролік.

Рецептури, придатні для парентерального призначення включають водні і неводні ізотонічні стерильні розчини для ін'єкцій, які можуть містити антиоксиданти, буфери, бактеріостатики і речовини, що підтримують ізотонічний стан щодо крові реципієнта, і водні і неводні стерильні суспензії, що можуть включати суспендуючі засоби, сол'юбілізатори, згущувачі, стабілізатори і консерванти. Інгібітор може бути призначений разом з фізіологічно прийнятним розріджувачем у фармацевтичному наповнювачі, такому як стерильна рідина або суміш рідин, включаючи воду, сольовий розчин, водну декстрозу і розчини родинних їй цукрів, спирт, такий як етанол, ізопропанол або гексадециловий спирт, гліколі, такі як пропіленгліколь або поліетиленгліколь диметилсульфоксид, кетали гліцерину, такі як 2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-метанол, ефіри, такі як полі(етиленгліколь) 400, масло, жирна кислота, ефір жирної кислоти або гліцерид, або ацетильований гліцерид жирної кислоти з додаванням або без додавання фармацевтично прийнятної поверхнево-активної речовини, такої як мило або детергент, суспендуючого засобу, такого як пектин, карбомери, метилцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза або карбоксиметилцелюлоза, або емульгуючого засобу й інших фа-

рмацевтичних ад'ювантів. Масла, які можуть бути використані в парентеральних рецептурах включають нафтові, тваринні, рослинні і синтетичні масла. Специфічні приклади масел включають арахісове, соєве, кунжутне, бавовняне, кукурудзяне, маслинове, вазелін і мінеральне масло.

Придатні жирні кислоти для застосування в парентеральних рецептурах включають олеїнову кислоту, стеаринову кислоту і ізостеаринову кислоту. Етилолеат і ізопропілміристат є прикладами придатних ефірів жирних кислот.

Придатні мила для використання в парентеральних рецептурах включають солі жирних кислот лужних металів, аміаку і триетаноламінові солі, а придатні детергенти включають (а) катіонові детергенти, такі як, наприклад, галогеніди диметилдіалкіламонію і галогеніди алкілпіридину, (б) аніонові детергенти, такі як, наприклад, алкіл-, арил- і олефін-сульфонати, сульфати алкілів, олефінів, ефірів і моногліцеридів і сульфосукцинати, (в) неіонні детергенти, такі як, наприклад, окисли жирнокислотних амінів, алканоламіди жирних кислот і співполімери поліоксетиленполіпропілену, (г) амфотеричні детергенти, такі як, наприклад, алкіл-п-амінопропіонати і 2-алкіл-імідазолінові солі четвертинного амонію і (д) їх суміші.

Парентеральні рецептури звичайно будуть містити від приблизно 0.5 до приблизно 25 вагових відсотків активного компонента в розчині. Можуть бути використані консерванти і буфери. З метою зменшення або запобігання подразнення в місці ін'єкції, такі композиції можуть містити один або більше неіонних поверхнево-активних речовин з гідрофільно-ліпофільним балансом (ГЛБ) від приблизно 12 до приблизно 17.

Кількість поверхнево-активного засобу в таких рецептурах повинна варіювати від приблизно 5 до приблизно 15 ваг.%. Придатні поверхнево-активні засоби включають жирнокислотні ефіри поліетиленсорбітану, такі як моноолеат сорбітану і високомолекулярні адукти оксиду етилену з гідрофобною основою, утворені конденсацією пропіленоксиду з пропіленгліколем. Парентеральні рецептури можуть бути представлені в однодозових або багатовдозових контейнерах, таких як ампули і флакони, і можуть зберігатися в ліофілізованій формі, вимагаючи тільки додавання стерильного рідкого наповнювача, наприклад води, для ін'єкції безпосередньо перед використанням. Розчини і суспензії негайного застосування можуть бути приготовлені зі стерильних порошоків, гранул і таблеток описаних раніше видів.

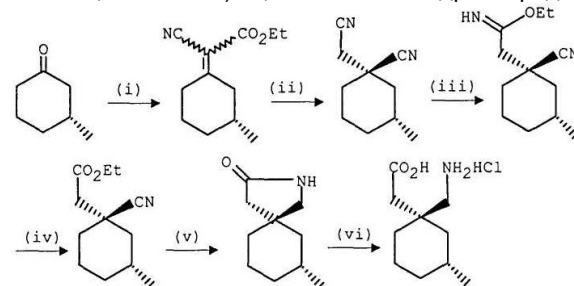
Такі композиції можуть бути створені як внутрішньоочні рецептури, як рецептури або пристрої для тривалого введення [див., наприклад, патент США №5378475]. Наприклад, желатин, хондроїтинсульфат, поліфосфоефір, такий як біс-2-гідроксиетилтерфталат (БГЕТ) або полімолочногліколева кислота (у різних пропорціях) можуть бути використані для створення рецептур тривалої дії. Можуть бути використані імплантати [див., наприклад, патенти США №5443505, 4953224 і 4997652], пристрої [див., наприклад, патенти США №5554187, 4863457, 5098443 і 5725493], такі як пристрої, що імплантуються, наприклад механічний резервуар, внутрішньоочні пристрої або поза-

очні пристрої з внутрішньоочним каналом (наприклад, від 100мкм до 1мм у діаметрі), або пристрої, що включають полімерні композиції, як ті, що описані вище.

Спосіб даного винаходу може також включати супутнє призначення інших фармацевтично активних компонентів. "Супутнє призначення" означає призначення до, одночасно, наприклад, у комбінації з інгібітором BCAT, у тій же рецептурі або в окремій рецептурі, або після призначення інгібітора BCAT, як описано вище. Наприклад, кортикостероїди, наприклад, преднізон, метилпреднізолон, дексаметазон або тримасиналону ацетинід або некортикостероїдні антизапальні сполуки, такі як ібупрофен або флупіробен, можуть бути призначені спільно. Подібним чином, можуть бути спільно призначені вітаміни і мінеральні речовини, наприклад, цинк, антиоксиданти, наприклад каротиноїди (такі як ксантофільні каротиноїди, наприклад зеаксантину або лютеїну), і мікроелементи.

Загальні схеми синтезу при одержанні сполук Формул I-IV.

ПРИКЛАД 1: транс-(1R,3R)(1-амінометил-3-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



- (i) $\text{Et}_2\text{CCH}_2\text{CN}$, NH_4AC , AcOH , толуол, 120°C
(ii) а. NaCN , EtOH (95%), H_2O , 115°C , б. HCl (газ)
(iii) EtOH , HCl (газ), толуол
(iv) HCl , H_2O
(v) H_2 , EtOH/NH_3 , Ni Рейні, $30-50^\circ\text{C}$
(vi) HCl , H_2O , 140°C

Етап i: 2-ціано-((R)-3-метил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір

Суміш 3-(R)-метилциклогексанону (125мМоль), етилціаноацетату (124мМоль), ацетату амонію (12.5мМоль) і крижаної оцтової кислоти (24мМоль) кип'ятили зі зворотним холодильником з пасткою Діна Старка протягом 24 годин. Суміш охолоджували і промивали H_2O . Змив H_2O екстрагували толуолом. Толуольні екстракти поєднували з одержаною органічною фазою, сушили над MgSO_4 і випарювали розчинник. Грубий масляний препарат очищали дистиляцією Кугельрора з одержанням масла (температура кипіння $150-160^\circ\text{C}$). Вихід 86%.

^1H ЯМР (CDCl_3) 400МГц δ : 1.01-1.05 (3H, m), 1.17-1.32 (1H, m), 1.35 (3H, t, $J=7\text{Гц}$), 1.42-2.30 (6H, m), 2.98 (1H, d, $J=13\text{Гц}$), 3.74 (1H, d, $J=13\text{Гц}$), 4.27 (2H, q, $J=7\text{Гц}$)

Мас-спектрометрія (CI) m/z : 208 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_2$

Розрахунок: C 69.54 H 8.27 N 6.76;

Результат аналізу: C 69.44 H 8.22 N 6.76

Етап ii: транс-(1R,3R)-1-ціанометил-3-метил-циклогексанкарбонітрил

До розчину NaCN (40мМоль) у 6 мл H_2O і

160мл етанолу (95%) додавали 2-ціано((R)-3-метил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (40мМоль). Через 22 години кипіння під зворотним холодильником охолоджений розчин фільтрували, фільтрат підкисляли газоподібним HCl і знову фільтрували. Розчинник видаляли, а грубий масляний препарат очищали колонковою хроматографією з одержанням біло-жовтої кристалічної твердої речовини. Вихід 88%.

^1H ЯМР (CDCl_3) 400МГц δ : 0.90 (1H, m), 0.98 (3H, d, J=6Гц), 1.11 (1H, t, J=12Гц), 1.38 (1H, dt, J=4.9Гц), 1.60-1.90 (4H, m), 2.07 (2H, m), 2.68 (2H, s)

Мас-спектрометрія (CI) м/з: 163 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$

Розрахунок: C 74.04 H 8.70 N 17.27;

Результат аналізу: C 74.05 H 8.71 N 17.25

Етап iii: транс-2-((1R,3R)-1-ціано-3-метил-циклогексил)-ацетимідової кислоти етиловий ефір

До розчину транс-(1R,3R)-1-ціанометил-3-метил-циклогексанкарбонітрилу

(6.2ммоль) у 30мл етанолу (абсолютного) додавали 30мл сухого толуолу. Розчин охолоджували в льоді, насичуючи при цьому газоподібним HCl. Закритий розчин потім залишали при кімнатній температурі на 24 години. Розчинник видаляли, а твердий залишок розтирали з діетиловим ефіром з одержанням осаду, який висушували з одержанням білої кристалічної твердої речовини. Вихід 50%.

$T_{\text{пл}}$ 118-120°C

^1H ЯМР (DMCO) 400МГц δ : 0.8-0.89 (1H, m), 0.91 (3H, d, J=6.3Гц), 1.06-1.12 (1H, m), 1.24-1.35 (1H, m), 1.37 (3H, t, J=7Гц), 1.41-1.95 (6H, m), 3.02 (2H, s), 4.49 (2H, q, J=7Гц)

Мас-спектрометрія (CI) м/з: 195 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ 1.08M HCl

Розрахунок: C 58.19 H 8.58 N 11.31;

Результат аналізу: C 58.25 H 8.59 N 11.59

Етап iv: транс-((1R,3R)-1-ціано-3-метил-циклогексил)оцтової кислоти етиловий ефір

Транс-2-((1R,3R)-1-ціано-3-метил-циклогексил)-ацетимідової кислоти етиловий ефір (1.1мМоль) розчиняли в крижаній H_2O (40мл) і доводили pH 1N HCl до pH1.5. Розчин перемішували при кімнатній температурі 20 годин. Додавали етилацетат (30мл) і промивали органічний шар H_2O , сушили і видаляли розчинник з одержанням прозорого масла. Вихід 82%.

^1H ЯМР (CDCl_3) 400МГц δ : 0.78-0.90 (1H, m), 0.93 (3H, d, J=6Гц), 0.97-1.00 (1H, m), 1.23-1.25 (1H, m), 1.29 (3H, t, J=7.2Гц), 1.59-1.80 (4H, m), 2.05-2.08 (2H, Br t), 2.54 (2H, s), 4.20 (2H, q, J=7.2Гц)

Мас-спектрометрія (CI) м/з: 210 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_2$

Розрахунок: C 68.87 H 9.15 N 6.69;

Результат аналізу: C 68.87 H 9.11 N 6.90

Етап v: Транс-(5R, 7R)-7-метил-2-аза-спіро[4.5]декан-3-он

Транс-((1R,3R)-1-ціано-3-метил-циклогексил)оцтової кислоти етиловий ефір (8.9мМоль) розчиняли в NH_3/EtOH (7%, 40мл) разом з попередньо промитим нікелем Рейні (H_2O , потім EtOH) у 250мл колбі Парра. Розчин гідрогенізували при 30°C, 46psi, протягом 24 годин. Охолоджений розчин фільтрували через подушку це-

літу, промиту етилацетатом. Розчинник з фільтрату видаляли з одержанням білої твердої речовини. Вихід 30%.

$T_{\text{пл}}$ 92-98°C

^1H ЯМР (DMCO) 400МГц δ : 0.75-0.82 (1H, m), 0.84 (3H, d, J=6.4Гц), 0.88-0.94 (1H, m), 1.14-1.19 (1H, m), 1.20-1.50 (2H, m), 1.50-1.63 (4H, m), 1.91 (2H, s), 3.03 (2H, s), 7.42 (1H, s)

Мас-спектрометрія (CI) м/з: 168 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}$

Розрахунок: C 71.81 H 10.25 N 8.37;

Результат аналізу: C 71.80 H 10.29 N 8.31

Етап vi: транс-((1R,3R)-1-амінометил-3-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид

Транс-(5R, 7R)-7-метил-2-аза-спіро[4.5]декан-3-он (2.17мМоль) розчиняли в розчині 10M HCl (5мл) і H_2O (5мл), і суміш кип'ятили під зворотним холодильником при приблизно 140°C 5 годин. Охолоджений розчин розбавляли 10мл H_2O і 10мл DCM і водний шар далі промивали 2x15мл DCM. Водний шар концентрували до сухості з одержанням білої твердої речовини. Вихід 76%.

$T_{\text{пл}}$ 148-155°C. $[\alpha]_D^{20} = -2.5$ ($T=20^\circ\text{C}$, $c=1$, MeOH).

Один ізомер (RR).

^1H ЯМР (CDCl_3) 400МГц δ : 0.69-0.79 (1H, m), 0.82 (3H, d, J=6Гц), 0.87-0.90 (1H, m), 1.12-1.20 (1H, dt, J=4.5, 13.3Гц), 1.34-1.50 (3H, m), 1.60-1.63 (3H, m), 2.30 (2H, s), 3.01 (2H, s), 7.93 (3H, Br s)

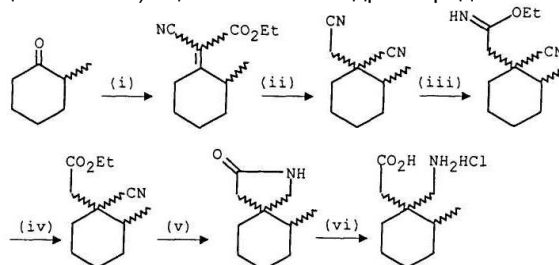
Мас-спектрометрія (CI) м/з: 186 (MH^+)

Мікроаналіз: $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ 1.1 HCl

Розрахунок: C 53.29 H 8.99 N 6.21;

Результат аналізу: C 53.23 H 8.99 N 6.45

ПРИКЛАД 2: (1-амінометил-2-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



i. $\text{Et}_2\text{CCH}_2\text{CN}$, NH_4AC АсОН, толуол, 120°C

ii. а. NaCN, EtOH (95%), H_2O , 115°C, б. HCl (газ)

iii. EtOH, HCl (газ), толуол

iv. HCl, H_2O

v. H_2 , EtOH/ NH_3 , Ni Рейні, 30-50°C

vi. HCl, H_2O , 140°C

Етап i: 2-ціано-(2-метил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір

Реакцію (+/-)-2-метилциклогексанону (80мМоль), етилціаноацетату (80мМоль), ацетату амонію (8мМоль) і крижаної оцтової кислоти (16мМоль) проводили як Етап i загального способу (Приклад 1) з одержанням прозорого масла. Вихід 76%.

^1H ЯМР (CDCl_3) 400МГц δ : 1.23 (3H, dd, J=7, 10Гц), 1.35 (3H, t, J=7Гц), 1.55-1.82 (5H, m), 1.93-2.05 (1H, m), 2.17 (1H, dt, J=5, 14Гц), 2.47 (1H, dt, J=5, 9Гц), 2.92-2.97 (1H, Br, d, J=15Гц), 3.30-3.35 (1H, m), 3.81-3.86 (1H, Brd, J=15Гц), 4.06-4.14 (1H, m), 4.23-4.30 (3H, dq, J=1, 6Гц)

Мас-спектрометрія (CI) м/з: 208 (MH^+)

Мікроаналіз: $C_{12}H_{17}NO_2$

Розрахунок: C 69.54 H 8.27 N 6.76;

Результат аналізу: C 69.26 H 8.26 N 6.66

Етап ii: і-ціанометил-2-метил-циклогексанкарбонітрил

Реакцію 2-Ціано-(2-метил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етиловий ефіру (37мМоль) і NaCN (37мМоль) проводили як в Етапі ii Прикладу 1. Грубий препарат твердої речовини очищали колоновою хроматографією (3:1 гептан:етилацетат) з одержанням прозорого масла. Вихід 76%.

1H ЯМР ($CDCl_3$) 400МГц δ : 1.06 (3H, d, $J=6.8$ Гц), 1.11 (3H, d, $J=6.8$ Гц), 1.20-2.20 (18H, m), 2.77 (2H, dd, $J=16.8$ Гц), 2.63 (2H, dd, $J=16.8$ Гц)

Мас-спектрометрія (CI) m/z : 163 (MH^+)

Мікроаналіз: $C_{10}H_{14}N_2O \cdot 1 H_2O$

Розрахунок: C 73.49 H 8.69 N 16.86;

Результат аналізу: C 73.24 H 8.73 N 17.08

Етап iii: 2-(1-ціано-2-метил-циклогексил)-ацетимідової кислоти етиловий ефір

Реакцію 1-Ціанометил-2-метил-циклогексанкарбонітрилу (7.3мМоль) проводили як в Етапі iii Прикладу 1 з одержанням білої твердої речовини. Вихід 70%.

$T_{пл}$ 107-114°C

1H ЯМР ($DMCO$) 400МГц δ : 1.00-1.06 (3H, 2xt, $J=6.4$ Гц), 1.10-1.38 (2H, m), 1.38 (3H, t, $J=6.8$ Гц), 1.40-2.10 (7H, m), 2.86, 2.92, 3.10, 3.28 (2H, 4xd, $J=14, 14.4, 14.8$ 14Гц соотв.), 4.48 (2H, q, $J=6.8$ Гц)

Мас-спектрометрія (CI) m/z : 209 (MH^+)

Мікроаналіз: $C_{12}H_{20}N_2O \cdot 1.06M HCl$

Розрахунок: C 58.37 H 8.60 N 11.34;

Результат аналізу: C 58.15 H 8.63 N 11.60

Етап iv: (1-ціано-2-метил-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір

Реакцію 2-(1-ціано-2-метил-циклогексил)-ацетимідової кислоти етилового ефіру (4.1мМоль) проводили як в Етапі (iv) Прикладу 1 з одержанням прозорого масла. Вихід 82%.

1H ЯМР ($CDCl_3$) 400МГц δ : 1.03, 1.09 (3H, 2xd, $J=7$ Гц), 1.27-1.30 (3H, m), 1.32-2.00 (8H, m), 2.10-2.20 (1H, m), 2.44, 2.82 (3H, 2xd, $J=14.8$ Гц), 2.54 (1H, m), 4.16-4.22 (2H, m)

Мас-спектрометрія (CI) m/z : 210 (MH^+)

Мікроаналіз: $O_{12}H_{19}NO_2$

Розрахунок: C 68.87 H 9.15 N 6.69;

Результат аналізу: C 68.84 H 9.13 N 6.75

Етап v: 6-Метил-2-аза-спіро[4.5]декан-3-он

Реакцію (1-ціано-2-метил-циклогексил)-оцтової кислоти етилового ефіру (8.4мМоль) проводили як в Етапі (v) Прикладу 1 протягом 24 годин при 10°C 50psi. Грубий масляний препарат очищали колоновою хроматографією (етилацетат) з одержанням білої твердої речовини. Вихід 34%.

$T_{пл}$ 85-90°C

1H ЯМР ($CDCl_3$) 400МГц δ : 0.88-0.91 (3H, dd, $J=4, 6.8$ Гц), 1.41-1.78 (9H, m), 2.00-2.30 (2H, m), 3.06-3.23 (2H, m), 7.27 (1H, Br s)

Мас-спектрометрія (CI) m/z : 168 (MH^+)

Мікроаналіз: $C_{10}H_{17}NO$

Розрахунок: C 71.81 H 10.24 N 8.37;

Результат аналізу: C 71.83 H 10.19 N 8.27

Етап vi: (1-амінометил-2-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид

Реакцію 6-Метил-2-аза-спіро[4.5]декан-3-ону (2.5мМоль) проводили як в Етапі (vi) Прикладу 1 з

одержанням білої твердої речовини. Вихід 42%.

$T_{пл}$ 108-110°C.

$[\alpha]_D^{20}=0$ ($T=20.5^\circ C$, $C=1$, MeOH). Два діастереомери 3:1.

1H ЯМР ($DMCO+D_2O$) 400МГц δ : 0.79, 0.85 (3H, 2xd, $J=6.8$ Гц), 1.21-1.65 (9H, m), 2.22, 2.43 (1H, 2xd, $J=15$ Гц), 2.46, 2.49 (1H, 2xd, $J=15$ Гц), 2.83-2.92 (1H, 2xd, $J=13.6$ Гц), 3.05, 3.15 (1H, 2xd, $J=15$ Гц), 2.46 2.49 (1H, 2xd, $J=15$ Гц), 2.83-2.92 (1H, 2xd, $J=13.6$ Гц), 3.05, 3.15 (1H, 2xd, $J=13.6$ Гц).

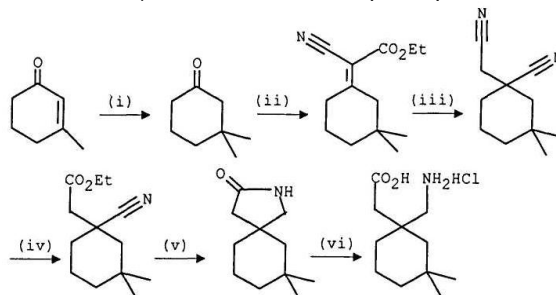
Мас-спектрометрія (CI) m/z : 186 (MH^+)

Мікроаналіз: $C_{10}H_{19}NO_2 \cdot 1.3 HCl$

Розрахунок: C 51.64 H 8.79 N 6.02;

Результат аналізу: C 51.66 H 8.91 N 6.16

ПРИКЛАД 3 (1-амінометил-3,3-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



i. Cu, MeLi, NH_4Cl , NH_3 , (92%)

ii. $NCCH_2CO_2Et$, NH_4OAc , AcOH, толуол, (83%)

iii. NaCN, EtOH, H_2O , (57%)

iv. HCl, EtOH, толуол, (93%)

v. H_2 , Ni Рейні, EtOH, NH_3 , (84%)

vi. HCl, H_2O , (64%)

Етап i: 3,3-диметил-циклогексанон:

Синтезували способом, [описаним у Pelletier, S. W., Mody, N. V., J. Org. Chem., 1976, 41, 1069].

Розчин диметилкупрату літію готували додаванням метиллітію (1.4М в ефірі 77.25мл, 2.45мМоль) до йодиду міді (I) (8.8г, 0.046мМоль) в атмосфері аргону. Розчин охолоджували до 0°C і додавали по краплях 3-метил-циклогексен-1-он (5мл, 0.044мМоль) з перемішуванням, після чого утворювався осад інтенсивно-жовтого кольору. Суспензію перемішували при кімнатній температурі одну годину, потім вливали в розчин водного аміаку (100мл) і ацетату амонію (5г). Шари розділяли, і водний шар промивали діетиловим ефіром (3x50мл). Об'єднану органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином (3x100 мл), сушили ($MgSO_4$) і видаляли розчинник під вакуумом з одержанням темно-жовтої рідини.

1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) 0.98 (6H, s), 1.59 (2H, m), 1.88 (2H, m), 2.14 (2H, m), 2.26 (2H, m).

ІЧ-спектроскопія (плівка) $\nu_{max} cm^{-1}$ 2956, 1711 ($C=O$), 1457, 1368, 1292, 1226, 1076.

Етап ii: 2-ціано-5,5-диметил-3-пропіл-гекс-2-енової кислоти етиловий ефір

До розчину 3,3-диметилциклогексанону (4г, 0.032мМоль) у толуолі (25мл) додавали етилціанацетат (3.37мл, 0.032мМоль, 0.2екв.), ацетат амонію (0.24г, 0.003мМоль, 0.1екв.), і оцтову кислоту (0.36мл, 0.006мМоль, 0.2екв.). Жовтий розчин нагрівали до кипіння під зворотним холодильником з пасткою Діна-Старка, і продовжували нагрівання доти, поки вода не перестала конденсуватися в пастці. Після охолодження жовтогарячий тепер

уже розчин промивали водою (3×25мл) і органічний шар сушили (MgSO₄). Фільтрація і видалення розчинника під вакуумом привели до одержання грубого продукту у вигляді темно-жовтого гарячої рідини. Після очищення дистиляцією Кугельрора одержували суміш цис і транс продуктів у вигляді блідо-жовтої рідини, T_{кип} 160-170°C, 4мбар (5.83г, 83%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) 0.96 (6H, s, 2x Me), 0.99 (6H, s, 2x Me), 1.34 (6H, m, 2x Me ефіри), 1.49 (4H, m), 1.75 (2H, хін., J6.4), 1.82 (2H, хін., J6.4), 2.46 (2H, s), 2.60 (2H, t, J=6.4Гц) 2.80 (2H, s), 2.93 (2H, t, J=6.4Гц), 4.27 (4H, m).

Мас-спектрометрія (CI) з/е: 222 (M⁺+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν_{max}см⁻¹ 2958, 2870, 2224 (CN), 1731 (C=O), 1606 (C=C), 1277, 1223.

Мікроаналіз: O₁₃H₁₉O₂N

Розрахунок: C 70.56 H 8.65 N 6.32;

Результат аналізу: C 70.35 H 8.79 N 6.25

Етап iii: 1-ціанометил-3,3-диметил-циклогексанкарбонітрил

До розчину 2-ціано-5,5-диметил-3-пропіл-гекс-2-єноєвої кислоти етилового ефіру (1.26г, 0.006Моль) в етанолі (100мл) і воді (4мл) додавали ціаністий натрій (0.28г, 0.006Моль, 1екв.). Жовтуватий розчин кип'ятили під зворотним холодильником 8 годин, потім охолоджували, у ході чого утворювався грязно-білий осад.

Суспензію фільтрували під вакуумом і фільтрат підкисляли газоподібним HCl приблизно до pH2. Потім суміш фільтрували вдруге і видаляли розчинник під вакуумом з одержанням грубого продукту у вигляді блідо-зеленої твердої речовини.

Колонкова флеш-хроматографія грубого продукту на силікагелі з елюцією 0-50% EtOAc у гептані дає бінітрил у вигляді безбарвної твердої речовини (0.57г, 57%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) 0.99 (3H, s, Me), 1.13 (1H, td, J13.2, 4.2), 1.21 (3H, s, Me), 1.32 (2H, m), 1.54 (1H, m), 1.82 (3H, m), 2.15 (1H, m), 2.65 (2H, s, CH₂CN).

¹³C ЯМР (400МГц, CDCl₃) 19.61, 25.17, 30.79, 31.18, 33.77, 34.79, 35.37, 37.92, 46.26, 115.06, 122.19.

Мас-спектрометрія (CI) з/е: 177 (M⁺+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν_{max}см⁻¹ 2988, 2937, 2237 (2xCN), 1749, 1456, 1423, 1369, 1202, 1180, 1031, 972.

Мікроаналіз: C₁₁H₁₆N₂

Розрахунок: C 74.96 H 9.15 N 15.89;

Результат аналізу: C 75.08 H 9.32 N 15.80

Етап iv: (1-ціано-3,3-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір:

1-ціанометил-3,3-диметил-циклогексанкарбонітрил (0.50г, 2.84мМоль) розчиняли в абсолютному етанолі (20мл) при кімнатній температурі, потім охолоджували до 0°C. До розчину додавали толуол (20мл), після чого реакційну суміш підкисляли пропусканням через її газоподібну HCl при невеликій швидкості протягом 45хв. Потім колбу затикали і залишали при кімнатній температурі на 24 години.

Одержаний жовтий розчин розподілявся між фазами етилацетату і води, шари відокремлювали. Водний шар екстрагували етилацетатом

(3×30мл), об'єднану органічну фазу промивали насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (3×50мл), сольовим розчином (3×50мл), сушили (MgSO₄) і видаляли розчинник під зниженим тиском з одержанням блідо-жовтої рідини (0.59г, 93%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) 0.94 (3H, s, Me), 1.16 (3H, m), 1.21 (3H, s, Me), 1.29 (3H, t, J7.2, CH₂CH₃), 1.50 (1H, m), 1.65 (1H, dt, J14.4, 7.6), 1.84 (1H, qt, J13.3, 3.2), 1.96 (1H, dt, J13.7, 2.2), 2.16 (1H, m), 2.48 (1H, d, J15.6, C-2H), 2.54 (1H, d, J15.6, C-2H), 4.20 (2H, q, J7.2, CH₂CH₃).

¹³C ЯМР (400МГц, CDCl₃) 14.21, 16.95, 25.42, 31.03, 34.04, 34.14, 36.08, 38.44, 46.14, 46.80, 61.02, 123.67, 169.00.

Мас-спектрометрія (CI) з/е: 224 (M⁺+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν_{max}см⁻¹ 2998, 2937, 2868, 2234 (CN), 1738(C=O), 1457, 1372, 1217, 1181, 1154, 1026.

Мікроаналіз: C₁₃H₂₁NO₂

Розрахунок: C 69.92 H 9.48 N 6.27;

Результат аналізу: C 69.63 H 9.45 N 6.15

Етап v: 7,7-диметил-2-азо-спіро-[4,5]декан-3-он:

(1-ціано-3,3-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір (0.5г, 2.23мМоль) гідрогенізували в етанольному аміаку (60мл) з нікелем Рейні як каталізатор (0.25г) при 50°C і 50psi протягом 48 годин.

Потім каталізатор видаляли фільтрацією через целіт, а розчинник видаляли під вакуумом з одержанням жовтуватої кристалічної речовини.

Колонкова флеш-хроматографія з елюцією 0-100% етилацетатом у гептані привела до одержання чистого лактаму у вигляді безбарвної твердої речовини (340мг, 84%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) 0.89 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 1.25 (2H, m), 1.36 (2H, m), 1.51 (3H, m), 1.68 (1H, s), 2.18(1 H, d, J16.4, CH₂NH), 2.24 (1H, d, J16.8, CH₂NH), 3.15 (2H, s, CH₂CO).

¹³C ЯМР (400МГц, CDCl₃) 19.16, 29.88, 30.36, 31.28, 36.57, 39.05, 39.61, 44.58, 49.54, 54.79, 177.72.

Мас-спектрометрія (CI) з/е: 182 (M⁺+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν_{max}см⁻¹ 3203, 3100 (NH), 2914, 2860, 1698(C=O), 1486, 1374, 1317, 1289, 1257, 1076.

Мікроаналіз: C₁₁H₁₉NO

Розрахунок: C 72.88 H 10.56 N 7.73;

Результат аналізу: C 72.38 H 10.47 N 7.56

Етап vi: (1-амінометил-3,3-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:

7,7-диметил-2-азо-спіро-[4,5]декан-3-он (0.3г, 1.66ммоль) розчиняли в суміші HCl (конц., 5мл) і води (5мл) і одержаний безбарвний розчин кип'ятили під зворотним холодильником 20 годин розчин охолоджували і розподіляли між водою і дихлорметаном, після чого відокремлювали шари. Водний шар промивали дихлорметаном (3×20мл) і видаляли воду і HCl у ротаційному випарнику з одержанням грубого продукту у вигляді грязно-білої твердої речовини. Розтирання його з етилацетатом і фільтрація продукту привело до одержання (1-амінометил-3,3-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлориду у вигляді безбарвної твердої речовини (140мг, 42%, 64% у перераху-

ванні на використану вихідну речовину).

^1H ЯМР (400МГц, ДМСО) 0.90 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 1.15-1.49 (8H, m), 2.45 (2H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$), 2.90 (2H, br.q, J13.5, CH_2NH_3), 7.96 (3H, br.s, NH_3), 12.36 (1H, br.s, OH).

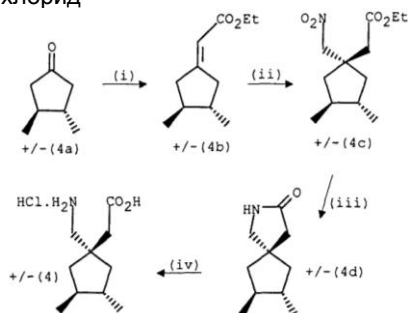
ІЧ-спектроскопія (плівка) $\nu_{\text{max}}\text{cm}^{-1}$ 2930, 1728($\text{C}=\text{O}$), 1272, 1123.

Мікроаналіз: $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{NO}_2\text{Cl}$

Розрахунок: C 56.04 H 9.41 N 5.94;

Результат аналізу: C 55.79 H 9.61 N 6.23

ПРИКЛАД 4: (+/-)-(транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Реактиви: (i) триетилфосфоацетат, Na; (ii) MeNO_2 , $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$; (iii) H_2 , Ni; (iv) HCl

Етап i: синтез (+/-)-(транс)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (4b)

Na (60% дисперсія в маслі, 737мг, 18.42мМоль) суспендували в сухому тетрагідрофурані (50мл) і охолоджували до 0°C . Потім додавали триетилфосфоацетат (3.83мл, 19.30мМоль) і перемішували суміш при 0°C 15 хвилин. Потім додавали кетон (+/-)-(4a) (1.965г, 17.54мМоль) у ТГФ (10мл) і залишали суміш нагрітись до кімнатної температури. Через 2 години суміш розподіляли між діетиловим ефіром (200мл) і водою (150мл). Органічну фазу відокремлювали, промивали сольовим розчином, сушили (MgSO_4) і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 1:9) з одержанням 3.01г (94%) (4b) у вигляді безбарвного масла.

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 1.01 (3H, d, J=6Гц), 1.03 (3H, d, J=6Гц), 1.26 (3H, t, J=7Гц), 1.49 (2H, m), 2.07 (1H, m), 2.24 (1H, m), 2.61(1H, m), 4.13 (2H, q, J=7Гц), 5.72 (1H, s)

Мас-спектрометрія (Cl^+) м/е: 183 (M+1)

Етап ii: синтез (+/-)-(транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етилового ефіру (4c)

(+/-)-(Транс)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір (4b) (2.95г, 16.2мМоль) розчиняли в тетрагідрофурані (10мл) і перемішували при 70°C з нітродметаном (1.9мл, 35.2мМоль) і фторидом тетрабутиламонію (1.0М в тетрагідрофурані, 22мл, 22.0мМоль). Через 6 годин суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (50мл) і промивали 2N HCl (30мл) і потім сольовим розчином (50мл). Органічну фазу збирали, сушили (MgSO_4) і видаляли під вакуумом розчинник. Залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 1:9) з одержанням 1.152г (29%) прозорого масла.

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 0.98 (6H, d, J=6Гц), 1.10-1.39 (5H, m), 1.47 (2H, m), 1.87 (1H, m), 2.03 (1H, m), 2.57 (2H, ABq, J=16.38Гц), 4.14 (2H, q, J=7Гц), 4.61 (2H, ABq, J=12.60Гц).

Мас-спектрометрія (ES^+) м/е: 244 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 1186, 1376, 1549, 1732, 2956.

Етап iii: синтез (+/-)-(транс)-7,8-диметил-спіро[4,4]нонан-2-ону (4d)

(+/-)-(транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етиловий ефір (4c) (1.14г, 4.7мМоль) розчиняли в метанолі (50мл) і струшували над каталізатором нікелем Рейні в атмосфері водню (40psi) при 30°C . Через 5 годин каталізатор видаляли фільтрацією через целіт. Розчинник видаляли під вакуумом з одержанням 746мг (95%) біло-жовтого масла, яке потім затверділо.

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 0.98 (6H, d, J=6Гц), 1.32 (2H, m), 1.46 (2H, m), 1.97 (2H, m), 2.27 (2H, ABq, J=16.27Гц), 3.23 (2H, s), 5.62 (1H, brs).

Мас-спектрометрія (ES^+) м/е: 168 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 1451, 1681, 1715, 2948, 3196.

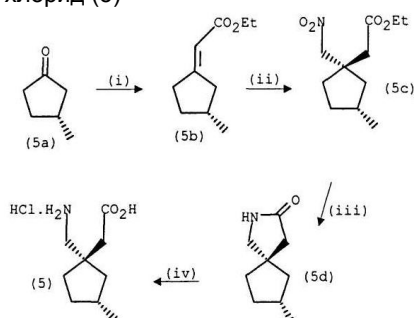
Етап iv: синтез (+/-)-(транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлориду (4)

(+/-)-(Транс)-7,8-диметил-спіро[4,4]нонан-2-он (4d) (734мг, 4.40мМоль) кип'ятили під зворотним холодильником у суміші 1,4-діоксану (5мл) і 6N HCl (15мл). Через 4 години суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водою (20мл) і промивали дихлорметаном (3x30мл). Водну фазу збирали і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок розтирали з етилацетатом і після збору і висушування одержували 675мг (69%) білої твердої речовини.

^1H ЯМР 400МГц, (de-ДМСО): δ 0.91 (6H, d, J=6Гц), 1.18 (2H, m), 1.42 (2H, m), 1.72 (1H, m), 1.87 (1H, m), 2.42 (2H, ABq, J=16.24Гц), 2.90 (2H, ABq, J=12.34Гц) 8.00 (3H, brs), 12.34(1H, brs).

Мас-спектрометрія (ES^+) м/е: 186 (M+1 для віЛЬНООСНОВНОЇ форми).

ПРИКЛАД 5 (цис/транс)-(3R)-(1-амінометил-3-метил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид (5)



Реактиви: (i) триетилфосфоацетат, Na; (ii) MeNO_2 , $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$; (iii) H_2 , Ni; (iv) HCl

Етап i: синтез (R)-(3-метил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (5b)

Na (60% дисперсія в маслі, 1.87г, 46.5мМоль) суспендували в сухому тетрагідрофурані (40мл) і охолоджували до 0°C . Потім додавали триетилфосфоацетат (9.69мл, 48.8мМоль) і перемішували

вали суміш при 0°C 15 хвилин. Потім додавали (R)-3-метил-циклопентанон (5a) (5мл, 46.5мМоль) у ТГФ (10мл) і залишали суміш нагрітися до кімнатної температури. Через 2 години суміш розподіляли між діетиловим ефіром (200мл) і водою (150мл). Органічну фазу відокремлювали, промивали сольовим розчином, сушили (MgSO₄) і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 1:9) з одержанням 5.45г (70%) (2) у вигляді безбарвного масла.

¹H ЯМР 400МГц, (CDCl₃): δ 1.04 (3H, m), 1.27 (3H, t, J=7Гц), 1.80-2.74 (7H, m), 2.90-3.15 (1H, m), 4.13 (2H, q, J=7Гц), 5.76 (1H, s).

Мас-спектрометрія (CI+) m/e: 169 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν см⁻¹: 1205, 1371, 1653, 1716, 2955.

Етап ii: синтез (цис/транс)-(3R)-(3-метил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етилового ефір (5c)

(R)-(3-Метил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір (b) (3.0г, 17.8мМоль) розчиняли в тетрагідрофурані (10мл) і перемішували при 70°C з нітрометаном (1.92мл, 35.6мМоль) і фторидом тетрабутиламонію (1.0М в тетрагідрофурані, 25мл, 25.0мМоль). Через 18 годин суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (50мл) і промивали 2N HCl (30мл) і потім сольовим розчином (50мл). Органічну фазу збирали, сушили (MgSO₄) і видаляли під вакуумом розчинник. Залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 1:9) з одержанням 2.00г (49%) прозорого масла.

¹H ЯМР 400МГц, (CDCl₃): δ 1.02 (3H, d, J=6Гц), 1.08-1.37 (5H, m), 1.59-2.17 (5H, m), 2.64 (2H, m), 4.15 (2H, q, J=7Гц), 4.64 (2H, m).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e: 230 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν см⁻¹: 1183, 1377, 1548, 1732, 2956.

Етап iii: синтез (цис/транс)-(7R)-7-метил-спіро[4,4]нонан-2-ону (5d)

(цис/транс)-(3R)-(3-метил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етиловий ефір (5c) (1.98г, 8.66мМоль) розчиняли в метанолі (50мл) і струшували над каталізатором нікелем Рейні в атмосфері водню (40psi) при 30°C. Через 18 годин каталізатор видаляли фільтрацією через целіт. Розчинник видаляли під вакуумом і залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 1:1) з одержанням 1.05г (79%) білої твердої речовини.

¹H ЯМР 400МГц, (CDCl₃): δ 1.03 (3H, m), 1.22 (2H, m), 1.60-2.15 (5H, m), 2.22 (2H, m), 3.20 і 3.27 (2H усього, 2 x s, цис і транс), 6.18 (1H, br s).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e: 154 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν см⁻¹: 1695, 2949, 3231.

Етап iv: синтез (цис/транс)-(3R)-(1-амінометил-3-метил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлориду (5)

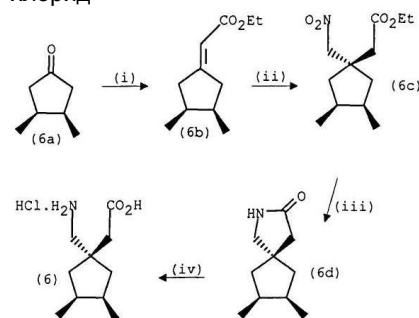
(Цис/транс)-(7R)-7-метил-спіро[4,4]нонан-2-он (5d) (746мг, 4.88ммоль) кип'ятили під зворотним холодильником у суміші 1,4-діоксану (5мл) і 6N HCl (15мл). Через 4 години суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водою (20мл) і промивали дихлорметаном (3×30мл). Во-

дну фазу збирали і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок розтирали з етилацетатом і після збору і висушування одержували білу тверду речовину. Її перекристалізовували із суміші етилацетат/метанол і після збору і висушування одержували 656мг (65%) (5).

¹H ЯМР 400МГц, (d₆-DMCO): δ 0.96 (3H, m), 1.01-1.24 (2H, m), 1.42-2.10 (5H, m), 2.41 і 2.44 (2H усього, 2 x s, цис/транс), 2.94 (2H, m), 7.96 (3H, br s), 12.35 (1H, br s).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e: 172 (M+1 для вільноосновної форми).

ПРИКЛАД 6: (+)-(транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Реактиви: (i) триетилфосфоноацетат, Na; (ii) MeNO₂, Bu₄N⁺F⁻; (iii) H₂, Ni; (iv) HCl

Етап i: синтез (цис)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (6b)

Na (60% дисперсія в маслі, 519мг, 12.96мМоль) суспендували в сухому тетрагідрофурані (30мл) і охолоджували до 0°C. Потім додавали триетилфосфоноацетат (2.68мл, 13.35мМоль) і перемішували суміш при 0°C 15 хвилин. Потім додавали (3S,4R)-3,4-диметил-циклопентанон (6a) (1.21г, 10.80мМоль) у ТГФ (10мл) і залишали суміш нагрітися до кімнатної температури. Через 2 години суміш розподіляли між діетиловим ефіром (200мл) і водою (150мл). Органічну фазу відокремлювали, промивали сольовим розчином, сушили (MgSO₄) і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок очищали флеш-хроматографією (силікагель, етилацетат:гептан 5:95) з одержанням 1.40г (71%) (2) у вигляді безбарвного масла.

¹H ЯМР 400МГц, (CDCl₃): δ 0.84 (3H, d, J=6Гц), 0.91 (3H, d, J=6Гц), 1.26 (3H, t, J=7Гц), 2.01-2.95 (6H, m), 4.13 (2H, q, J=7Гц), 5.76 (1H, s).

Мас-спектрометрія (CI+) m/e: 183 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν см⁻¹: 1043, 1125, 1200, 1658, 1715, 2959.

Етап ii: синтез (транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етилового ефіру (6c)

(Цис)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір (6b) (1.384г, 7.60мМоль) розчиняли в тетрагідрофурані (10мл) і перемішували при 70°C з нітрометаном (0.82мл, 15.2мМоль) і фторидом тетрабутиламонію (1.0М в тетрагідрофурані, 11.4мл, 11.4мМоль). Через 6 годин суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли етилацетатом (50мл) і промивали 2N HCl (30мл) і потім сольовим розчином (50мл). Органіч-

ну фазу збирали, сушили (MgSO_4) і видаляли під вакуумом розчинник. Залишок очищали флеш-хроматографією (силикагель, етилацетат/гептан 5:95) з одержанням 0.837г (45%) прозорого масла.

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 0.91 (6H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.21-1.39 (5H, m), 1.98 (2H, m), 2.18 (2H, m), 2.64 (2H, s), 4.15 (2H, q, $J=7\text{Гц}$), 4.61 (2H, s).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e : 244 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν cm^{-1} : 1184, 1377, 1548, 1732, 2961.

Етап iii: синтез (транс)-7,8-диметил-спіро[4,4]нонан-2-ону (6d)

(транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етиловий ефір (6c) (0.83г, 3.4мМоль) розчиняли в метанолі (30мл) і струшували над каталізатором нікелем Рейні в атмосфері водню (40psi) при 30°C. Через 4 години каталізатор видаляли фільтрацією через целіт. Розчинник видаляли під вакуумом з одержанням 567мг (99%) біло-жовтого масла, яке затверділо згодом.

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 0.89 (6H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.38 (2H, m), 1.91 (2H, m), 2.10 (2H, m), 2.32 (2H, s), 3.18 (2H, s), 5.61 (1H, br s).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e : 168 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν cm^{-1} : 1304, 1450, 1699, 2871, 3186.

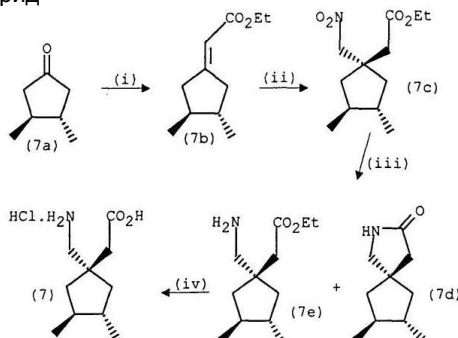
Етап iv: синтез (транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлориду (6)

(Транс)-7,8-диметил-спіро[4,4]нонан-2-он (6d) (563мг, 4.40мМоль) кип'ятили під зворотним холодильником у суміші 1,4-діоксану (5мл) і 6N HCl (15мл). Через 4 години суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли водою (20мл) і промивали дихлорметаном (3×30мл). Водну фазу збирали і видаляли розчинник під вакуумом. Залишок розтирали з етилацетатом і після збору і висушування одержували білу тверду речовину. Його перекристалізовували із суміші етилацетат/метанол і після збору і висушування одержували 440мг (59%) (6).

^1H ЯМР 400МГц, (d_6 -ДМСО): δ 0.84 (6H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.21 (2H, m), 1.81 (2H, m), 2.06 (2H, m), 2.47 (2H, s), 2.89 (2H, s), 7.94 (3H, br s) 12.30 (1H, br s).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e : 186 (M+1 для віЛЬНООСНОВНОЇ форми).

ПРИКЛАД 7 (+)-(транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Реактиви: (i) триетилфосфоноацетат, Na; (ii) MeNO_2 , $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$; (iii) H_2 , Ni; (iv) HCl

(3S,4S)-3,4-Диметил-циклопентанон (7a) опи-

саний у літературі і може бути синтезований способом, [описаним у: Y. Kato, Chem. Pharm. Bull., 1966; 14:1438-1439 і в посиланнях, що стосуються цієї публікації: W.C.M.C. Kokke, F.A. Varkevissier, J. Org. Chem., 1974;39:1535; R. Baker, D. Billington, N. Eranayake, JCS Chem. Comm., 1981:1234; K. Furuta, K. Iwanaga, H. Yamamoto, Tet. Lett., 1986;27:4507; G. Solladie, O. Lohse, Tet. Asymm., 1993;4:1547; A. Rosenquist, I. Kvarnstrom, S.C.T. Svensson, B. Classon, B. Samuelsson, Acta Chem. Scand., 1992; 46:1127; E.J. Corey, W. Su, Tet. Lett., 198:29:3423; D.W. Knight, B. Ojha, Tet. Lett., 1981;22:5101].

Етап i: синтез (транс)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (7b)

До суспензії гідриду натрію (1.3г, 32.5мМоль) у ТГФ (60мл) в атмосфері азоту при 0°C додавали триетилфосфоноацетат (6.5мл, 32.7мМоль) протягом 5 хвилин. Після перемішування протягом ще 10 хвилин, до прозорого тепер уже розчину додавали розчин (33,48)-3,4-диметил-циклопентанону (7a) (приблизно 2.68г, приблизно 30мМоль) у ТГФ (2×10мл) і крижану баню забирали. Через 4 години реакцію гасили, виливаючи суміш у воду (100мл), потім екстрагували ефіром (400мл). Органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином (100мл), сушили і концентрували під вакуумом. Після колонкової хроматографії (10:1 гептан/етилацетат) одержували продукт у вигляді масла (4.53г) (вихід приблизно 91%).

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 1.01 (3H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.03 (3H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.26 (3H, t, $J=7\text{Гц}$), 1.49 (2H, m), 2.07 (1H, m), 2.24 (1H, m), 2.61 (1H, m), 4.13 (2H, q, $J=7\text{Гц}$), 5.72 (1H, s).

Мас-спектрометрія (CI+) m/e : 183 (M+1)

Етап ii: синтез (транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етилового ефіру (7c)

До розчину (транс)-(3,4-диметил-циклопентиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (7b) (4.24г, 23.3мМоль) у ТГФ (15мл) додавали ТВАФ (32мл 1M розчину в ТГФ, 32мМоль) і потім нітрометан (3мл), після чого реакцію підтримували 8 годин при температурі 60°C. Після охолодження реакційну суміш розбавляли етилацетатом (150мл) і промивали 2N HCl (40мл) і потім насиченим сольовим розчином (50мл). Після колонкової хроматографії (10:1 гептан/етилацетат) одержували продукт у вигляді масла (2.24г) (вихід 40%).

^1H ЯМР 400МГц, (CDCl_3): δ 0.98 (6H, d, $J=6\text{Гц}$), 1.10-1.39 (5H, m), 1.47 (2H, m), 1.87 (1H, m), 2.03 (1H, m), 2.57 (2H, ABq, $J=16.38\text{Гц}$), 4.14 (2H, q, $J=7\text{Гц}$), 4.61 (2H, ABq, $J=12, 60\text{Гц}$).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e : 244 (M+1)

ІЧ-спектроскопія (плівка) ν cm^{-1} : 1186, 1376, 1549, 1732, 2956.

Етап iii: синтез (+)-(транс)-(1-амінометил-3,4-диметил-циклопентил)-оцтової кислоти гідрохлориду (7)

Розчин (транс)-(3,4-диметил-1-нітрометил-циклопентил)-оцтової кислоти етиловий ефір (7c) (3.5г, 14.4мМоль) у метанолі (100мл) у присутності нікелевої губки гідрогенізували при 30°C і 50psi протягом 4 годин. Каталізатор відфільтровували і фільтрат концентрували під вакуумом з одержан-

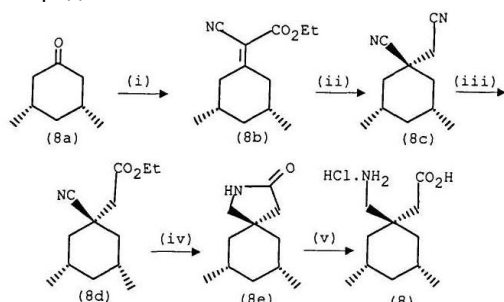
ням суміші 2:1 лактаму й аміноєфіру, 2.53г 96%, яка далі використовувалася без очищення. Цю суміш (2.53г, 13.8мМоль) у діоксані (15мл) і 6N HCl (45мл) кип'ятили під зворотним холодильником (110°C у масляній бані) 4 години. Після охолодження і розведення водою (60мл), суміш промивали дихлорметаном (3×50мл) і потім концентрували під вакуумом. Одержане масло промивали етилацетатом, потім дихлорметаном з одержанням липкої піни, яку сушили з одержанням продукту у вигляді білого порошку (2.32г) (вихід 76%).

$\alpha_D(23^\circ)(H_2O)(c=1.002)=+28.2^\circ$

1H ЯМР 400МГц, (d_6 -DMCO): δ 0.91 (6H, d, J=6Гц), 1.18 (2H, m), 1.42 (2H, m), 1.72 (1H, m), 1.87 (1H, m), 2.42 (2H, ABq, J=16, 24Гц), 2.90 (2H, ABq, J=12, 34Гц), 8.00 (3H, brs), 12.34 (1H, brs).

Мас-спектрометрія (ES+) m/e: 186 (M+1 для вільноосновної форми)

ПРИКЛАД 8 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Етап i: синтез 2-ціано-((3R,5S)-3,5-диметил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (8b):

Цис-3,5-диметилциклогексанон (8a, 15.78г, 125.0мМоль) розчиняли в толуолі (150мл) і обробляли ацетатом амонію (0.96г, 0.099мМоль), оцтовою кислотою (1.4мл, 0.195мМоль) і етилціаноацетатом (14.04г, 99.2мМоль). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі з пасткою Діна-Старка, потім охолоджували до кімнатної температури і промивали H_2O (3×50мл). Водний шар промивали толуолом (2×50мл). Органічні шари поєднували, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Залишок піддавали хроматографії на силікагелі, елюючи 5% EtOAc/гексан з одержанням 22.0г (80%) необхідного продукту у вигляді прозорого масла.

Мас-спектрометрія: 222.1 (M+1 для $C_{13}H_{19}N_1O_2$); масло; ТШХ: Si_2 , R_f 0.40 (9:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз ($C_{13}H_{19}N_1O_2$) (розрахунок) C: 70.56, H: 8.68, N: 6.33 (результат аналізу) C: 70.74, H: 8.68, N: 6.33. 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ : 0.83-0.95 (m, 1H), 1.01 (t, 6H, J=6.1Гц), 1.32 (t, 3H, J=7.3Гц), 1.48-1.85 (m, 5H), 2.97-3.02 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H, J=12.2, 2.2Гц), 4.24 (q, 2H, J=7.1Гц).

Етап ii: синтез 1 α ,3 β ,5 β -1-ціанометил-3,5-диметил-циклогексанкарбонітрилу (8c):

2-Ціано-((3R,5S)-3,5-диметил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір (8b, 6.64г, 30.0мМоль) розчиняли в EtOH (60мл) і додавали до суспензії NaCN (1.47г, 30.0мМоль) у EtOH/ H_2O (100мл/8мл). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі, потім

охолоджували до кімнатної температури, фільтрували і концентрували під вакуумом з одержанням прозорого масла, що затверділо під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 4:1 гексан/EtOAc з одержанням 4.05г (77%) необхідного продукту у вигляді білої, липкої твердої речовини.

Мас-спектрометрія: іон M+1 не спостерігався ($C_{11}H_{16}N_2$); масло; ТШХ: Si_2 , R_f 0.31 (4:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз ($C_{11}H_{16}N_2$) (розрахунок) C: 74.96, H: 9.15, N: 15.89 (результат аналізу) C: 74.81, H: 9.25, N: 15.65. 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 0.58 (dd, 1H, J=24.9, 12.2Гц), 0.96 (d, 6H, J=6.6Гц), 1.03 (t, 2H, J=12.9Гц), 1.75-1.90 (m, 3H), 2.01 (d, 2H, J=11.5Гц), 2.65 (s, 2H).

Етап iii: синтез 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлориду (8d):

1 α ,3 β ,5 β -1-ціанометил-3,5-диметил-циклогексанкарбонітрил (8c, 5.51г, 31.26мМоль) розчиняли в EtOH (80мл) і толуолі (80мл), охолоджували до 0°C і насичували газоподібним HCl. Розчин щільно закривали і перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, потім концентрували під вакуумом з одержанням грубого іміноєфіру у вигляді білої твердої речовини. Цей грубий матеріал розтирали з Et_2O (150мл) і сушили під вакуумом, потім обробляли H_2O (100мл) і 1M HCl (4мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, потім екстрагували EtOAc (3×100мл). Органічні шари поєднували, промивали сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 6:1 гексан/EtOAc з одержанням 5.78г (83%) необхідного продукту у вигляді прозорого масла.

Мас-спектрометрія: 224.1 (M+1 для $C_{13}H_{21}N_1O_2$); масло; ТШХ: Si_2 , R_f 0.32 (6:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз ($C_{13}H_{21}N_1O_2$) (розрахунок) C: 69.92, H: 9.48, N: 6.27 (результат аналізу) C: 70.03, H: 9.45, N: 6.30. 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 0.53 (dd, 1H, J=24.9, 12.0Гц), 0.91 (d, 6H, J=6.6Гц), 1.27 (t, 3H, J=7.1Гц), 1.70-1.76 (m, 1H), 1.80-1.90 (m, 2H), 2.02 (d, 2H, J=12.9Гц), 2.51 (s, 2H), 2.18 (q, 2H, J=7.1Гц).

Етап iv: синтез 5 α ,7 β ,9-7,9-диметил-2-азоспіро[4,5]декан-3-ону (8e)

1 α ,3 β ,5 β -(1-ціано-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір (8d, 5.82г, 26.1мМоль) розчиняли в MeOH (150мл), обробляли 10% Rh/2%Pd/C (1.0г) і струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 28 годин. Реакційну суміш фільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи градієнтом 2:3 гексан/EtOAc, EtOAc, 5% MeOH/EtOAc з одержанням 2.21г (47%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 182.0 (M+1 для $O_{11}H_{19}N_1O_1$); $T_{пл}$. 116-118°C; ТШХ: Si_2 , R_f 0.36 (6%MeOH/ CH_2Cl_2); Мікроаналіз ($C_{11}H_{19}N_1O_1$) (розрахунок) C: 72.88, H: 10.56, N: 7.73 (результат аналізу) C: 72.84, H: 10.67, N: 7.63. 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 0.49 (dd, 1H, J=24.4, 12.0Гц), 0.86-0.93 (m, 8H), 1.38-1.48 (m, 2H), 1.60-1.71 (m, 3H), 2.09 (s, 2H), 3.16 (s, 2H), 5.79 (br, 1H).

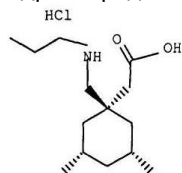
Етап v: синтез 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-

диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлориду (8):

5 α ,7 β ,9 β -7,9-Диметил-2-азо-спіро[4,5]декан-3-он (8e, 0.52г, 2.87мМоль) обробляли 6N HCl (19мл) і кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, у ході чого утворювався білий осад. Твердий залишок відфільтровували, а фільтрат охолоджували до 0°C, щоб спровокувати друге випадіння кристалів, потім знову фільтрували. Тверді залишки поєднували і сушили під вакуумом з одержанням 0.46г (68%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 200.1 (M+1 для C₁₁H₂₁N₁O₂); T_{пл} 179-180°C; Мікроаналіз (C₁₁H₂₁N₁O₂) (розрахунок) C: 56.04, H: 9.41, N: 5.94 (результат аналізу) C: 56.16, H: 9.42, N: 5.73. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ : 0.46-0.53 (m, 1H), 0.77 (t, 1H, J=12.5Гц), 0.85-0.91 (m, 7H), 1.55-1.67 (m, 5H), 2.11 (d, 2H, J=13.4Гц), 2.36 (s, 2H), 2.44 (s, 1H), 3.14 (s, 2H).

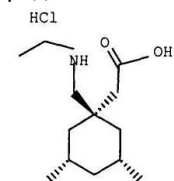
ПРИКЛАД 9 1 α ,3 β ,5 β -(3,5-диметил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (8, 1.0г, 4.2мМоль) розчиняли в EtOH (100мл), обробляли розчином гідроокису натрію (1N, 5мл), пропіонового альдегіду (0.9мл, 12.6мМоль) і 10% Pd/C (0.3г), і струшували в атмосфері H₂ (50psi) протягом 3 годин. Реакційну суміш фільтрували, обробляли HCl/Et₂O (1M, 10мл) і концентрували під вакуумом. Грубий продукт перекристалізовували з i-PrOH/ацетон/гексан (14:200:225мл) і сушили під вакуумом з одержанням 0.136г (12%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 242.1 (M+1 для C₁₄H₂₇N₁O₂); T_{пл} 178-180°C; Мікроаналіз (C₁₄H₂₇N₁O₂·HCl·0.27 H₂O) (розрахунок) C: 59.48, H: 10.18, N: 4.95 (результат аналізу) C: 59.53, H: 10.21, N: 4.78. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 0.52 (dd, 1H, J=24.2, 12.0Гц), 0.83-0.90 (m, 8H), 1.00 (t, 3H, J=7.6Гц), 1.61-1.80 (m, 7H), 2.43 (s, 2H), 2.98 (t, 2H, J=7.8Гц), 3.20 (s, 2H).

ПРИКЛАД 10 1 α ,3 β ,5 β -(1-етиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид

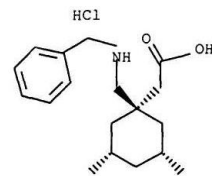


Сполуку прикладу 10 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду був використаний ацетальдегід, і для перекристалізації був використаний етилацетат/гептан (вихід 30%).

Мас-спектрометрія: 228 (M+1 для C₁₅H₂₉N₁O₂);

T_{пл} 188-190°C; ¹H ЯМР (DMCO) δ : 0.83 (8H, br d), 1.24 (3H, t, J=7.1Гц), 1.60 (6H, m), 2.38 (d, s), 2.98 (2H, m), 3.10 (2H, br s), 8.33 (2H, brs), 12.42 (1H, brs).

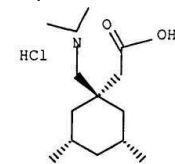
ПРИКЛАД 11 1 α ,3 β ,5 β -(1-бензиламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 11 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду був використаний бензальдегід, і для перекристалізації був використаний Et₂O (вихід 30%).

Мас-спектрометрія: 290.1 (M+1 для C₁₈H₂₇N₁O₂); T_{пл} 162-163°C; Мікроаналіз (C₁₈H₂₇N₁O₂·HCl·0.20 H₂O) (розрахунок) C: 65.62, H: 8.69, N: 4.25 (результат аналізу) C: 65.60, H: 8.71, N: 4.31. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 0.48 (dd, 1H, J=12.5Гц), 0.79-0.90 (m, 8H), 1.46 (br, 2H), 1.64 (d, 3H, J=13.4Гц), 2.42 (s, 2H), 3.19 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 7.43-7.50 (m, 5H).

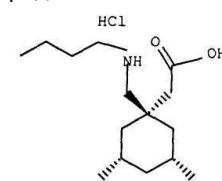
ПРИКЛАД 12 1 α ,3 β ,5 β -(1-диметиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



Розчин 1 α ,3 β ,5 β -(1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлориду (8, 0.20г, 0.59мМоль) у EtOH (15мл), гідроокису натрію (1N, 0.59мМоль) і H₂O (1мл) обробляли 20% Pd/C (50мг) і струшували в атмосфері H₂ (50psi) протягом 15 годин. Реакційну суміш потім фільтрували, обробляли 1N HCl/Et₂O (1мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізо-PrOH (4мл), розбавляли ацетоном (100мл) і Et₂O (350мл) і охолоджували до 0°C. Твердий залишок відфільтровували і сушили під вакуумом з одержанням 103мг (вихід 70%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 228.1 (M+1 для C₁₂H₂₃N₁O₂); T_{пл} 195-196°C; Мікроаналіз (C₁₂H₂₃N₁O₂·HCl·0.41 H₂O) (розрахунок) C: 57.58, H: 9.97, N: 5.16 (результат аналізу) C: 57.73, H: 9.71, N: 4.91. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ : 0.56 (dd, 1H, J=24.4, 12.0Гц), 0.89-0.92 (m, 8H), 1.59-1.75 (m, 8H), 2.51 (s, 2H), 2.95 (s, 6H), 3.44 (s, 2H).

ПРИКЛАД 13 1 α ,3 β ,5 β -(1-бутиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:

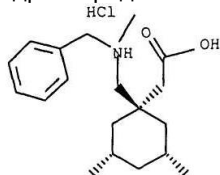


Сполуку прикладу 13 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіо-

нового альдегіду був використаний масляний альдегід (вихід 48%).

Мас-спектрометрія: 256.1 (M+1 для $C_{15}H_{29}N_1O_2$); $T_{пл}$ 184-185°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{29}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 61.73, H: 10.36, N: 4.80 (результат аналізу) C: 61.71, H: 10.21, N: 4.72. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.53 (dd, 1H, J=24.4, 12.0Гц), 0.86-0.99 (m, 11H), 1.37-1.47 (m, 2H), 1.60-1.75 (m, 7H), 2.43 (s, 2H), 3.02 (t, 2H, J=8.1Гц), 3.20 (s, 2H).

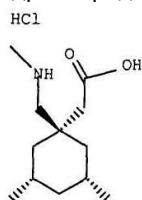
ПРИКЛАД 14 1 α ,3 β ,5 β -[1-[(бензилметиламіно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 14 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що як вихідний матеріал використовували N-бензильний аналог (11) і формальдегід, а Pt_2 використовували як каталізатор замість Pd/C (вихід 70%).

Мас-спектрометрія: 304.1 (M+1 для $C_{19}H_{29}N_1O_2$); $T_{пл}$ 209-210°C; Мікроаналіз ($C_{19}H_{29}N_1O_2 \cdot HCl \cdot 0.21H_2O$) (розрахунок) C: 66.40, H: 8.92, N: 4.08 (результат аналізу) C: 66.40, H: 9.05, N: 4.06. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.51 (dd, 1H, J=24.4, 12.0Гц), 0.79-0.92 (m, 9H), 1.29 (br, 1H), 1.56-1.82 (m, 4H), 2.51 (dd, 2H, J=18.8, 16.3Гц), 2.85 (s, 2H), 3.23-3.49 (m, 2H), 4.37 (dd, 2H, J=31.7, 12.7Гц), 7.45-7.54 (m, 5H).

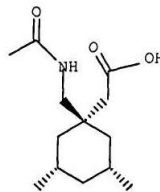
ПРИКЛАД 15 1 α ,3 β ,5 β -(3,5-диметил-1-метиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 14 (0.14г, 1.21мМоль) розчиняли в 95% EtOH (50мл), обробляли розчином гідроокису натрію (1N, 1.21мМоль) і 20% Pd/C (0.1г) і струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 45 хвилин. Реакційну суміш потім фільтрували, обробляли 1N HCl/Et₂O (1М, 1мл) і концентрували під вакуумом. Залишок обробляли гарячим i-PrOH, NaCl відфільтровували, а розчин концентрували під вакуумом. Грубий продукт перекристалізовували з i-PrOH/ацетон/гексан (7:150:110мл) і сушили під вакуумом з одержанням 0.189 (63%) необхідно-го продукту.

Мас-спектрометрія: 214.1 (M+1 для $C_{12}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 182-183°C; Мікроаналіз ($C_{12}H_{23}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 57.70, H: 9.68, N: 5.61 (результат аналізу) C: 57.47, H: 9.58, N: 5.35. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.52 (dd, 1H, J=24.4, 12.2Гц), 0.84-0.98 (m, 8H), 1.57-1.72 (m, 5H), 2.38 (s, 2H), 2.72 (s, 3H), 3.21 (s, 2H).

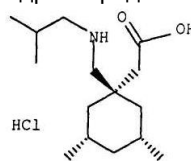
ПРИКЛАД 16 1 α ,3 β ,5 β -[1-(ацетиламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтова кислота:



Сполуку прикладу 8 (0.5г, 2.1мМоль) обробляли H_2O (10мл) і NaOH (0.56г, 14.0мМоль), охолоджували до 0°C і обробляли оцтовим ангідридом. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі, потім розбавляли EtOAc (100мл) і промивали 1N HCl (100мл). Органічний шар сушили над Na_2SO_4 і концентрували під вакуумом. Грубий матеріал хроматографували на силікагелі, елюючи 4% MeOH/ CH_2Cl_2 з одержанням 0.138г (27%) необхідного продукту у вигляді масла, що затверділо під вакуумом.

Мас-спектрометрія: 242.1 (M+1 для $C_{13}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 122-124°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{23}N_1O_2$) (розрахунок) C: 64.70, H: 9.61, N: 5.80 (результат аналізу) C: 64.65, H: 9.59, N: 5.63. 1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.46 (dd, 1H, J=23.7, 11.7Гц), 0.81-0.87 (m, 9H), 1.56 (d, 2H, J=13.4Гц), 1.65-1.76 (m, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.18 (s, 2H), 3.30 (s, 3H).

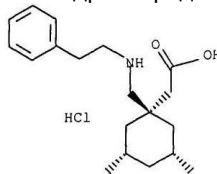
ПРИКЛАД 17 1 α ,3 β ,5 β -[1-(ізобутиламіно-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 17 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду використовували ізомасляний альдегід (вихід 53%).

Мас-спектрометрія: 256 (M+1 для $C_{15}H_{29}N_1O_2$); $T_{пл}$ 193-194°C; 1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.53 (dd, 1H, J=24.3, 12.5Гц), 0.81-0.90 (m, 2H), 0.89 (d, 6H, J=6.4Гц), 1.03 (d, 6H, J=6.8Гц), 1.57-1.71 (m, 5H), 2.09 (m, 1H), 2.49 (s, 2H), 2.88 (d, 2H, J=7.1Гц), 3.19 (s, 2H).

ПРИКЛАД 18 1 α ,3 β ,5 β -[3,5-диметил-1-(фенетиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:

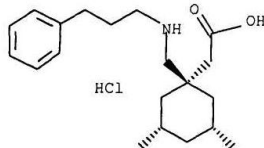


Сполуку прикладу 18 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду використовували фенолацетальдегід (вихід 16%).

Мас-спектрометрія: 304 (M+1 для $C_{19}H_{29}N_1O_2$); $T_{пл}$ 188-189°C; Мікроаналіз ($C_{19}H_{29}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 67.14, H: 8.90, N: 4.12 (результат аналізу) C: 66.94, H: 8.91, N: 3.98. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.46 (dd, 1H, J=24.6, 12.3Гц), 0.81-0.91 (m, 8H), 1.58-1.72 (m, 5H), 2.50 (s, 2H), 3.04-3.08 (m, 2H), 3.26-3.30 (m, 4H), 7.23-7.75 (m, 5H).

ПРИКЛАД 19 1 α ,3 β ,5 β -[3,5-диметил-1-[(3-

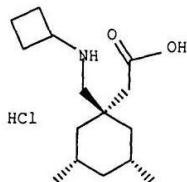
феніл-пропіламіно)-метил]-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 19 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду використовували гідроцинамовий альдегід (вихід 50%).

Мас-спектрометрія: 318 (M+1 для $C_{20}H_{31}N_1O_2$); $T_{пл}$ 171-172°C; Мікроаналіз ($C_{20}H_{31}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 67.87 H: 9.11, N: 3.96 (результат аналізу) C: 67.83, H: 9.13, N: 3.78. 1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.53 (dd, 1H, J=24.6, 12.1Гц), 0.80-0.90 (m, 2H), 0.90 (d, 6H, J=6.0Гц), 1.60-1.72 (m, 5H), 2.03-2.11 (m, 2H), 2.45 (s, 2H), 2.73 (t, 2H, J=7.5Гц) б 3.06 (t, 2H, J=7.7Гц), 3.3 (s, 2H), 7.20-7.18 (m, 5H).

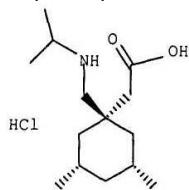
ПРИКЛАД 20 {1-[циклобутилметил-аміно)-метил]-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 20 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували циклобутанон (вихід 70%).

Мас-спектрометрія: 226 (M+1 для $C_{13}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 176-177°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{23}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 59.64 H: 9.24, N: 5.35 (результат аналізу) C: 59.88, H: 9.18, N: 5.19. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.16-1.60 (be, 10H), 1.80-1.96 (m, 2H), 2.21-2.40 (m, 4H), 2.53 (s, 2H), 2.97 (s, 2H), 3.73 (m, 1H).

ПРИКЛАД 21 1 α ,3 β ,5 β -(1-ізопропіламіно)-метил)-3,5-диметил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 21 синтезували способом прикладу 9, за винятком того, що замість пропіонового альдегіду використовували ацетон (вихід 50%).

Мас-спектрометрія: 242 (M+1 для $C_{14}H_{27}N_1O_2$); $T_{пл}$ 206-207°C; 1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.53 (dd, 1H, J=24.8, 12.5Гц), 0.80-0.90 (m, 2H), 0.99 (d, 6H, J=6.1Гц), 1.35 (d, 6H, J=6.6Гц), 1.55-1.78 (m, 5H), 2.45 (s, 2H), 3.18 (s, 2H), 3.41 (m, 1H).

ПРИКЛАД 22 1-амінометил-1-циклогексан-оцтова кислота раніше [описана в Satzinger et al. US 4087544, від 2 травня 1978].

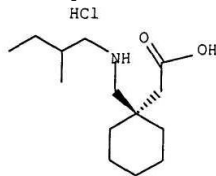
ПРИКЛАД 23 1-амінометил-1-циклопентан-оцтова кислота раніше [описана в Satzinger et al. US 4087544, від 2 травня 1978].

ПРИКЛАД 24 1-амінометил-1-циклопентан-оцтової кислоти натрієва сіль раніше [описана в

Satzinger et al. US 4087544, від 2 травня 1978].

ПРИКЛАД 25 1-(гідроксиметил)циклогексан-оцтової кислоти натрієва сіль раніше [описана в Satzinger et al. US 2960441, 1960].

ПРИКЛАД 26 Синтез {1-[(2-метил-бутиламіно)-метил]-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



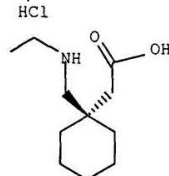
Розчин (1-амінометил-1-циклогексил)-оцтової кислоти (Приклад 22, 2.0г, 11.7мМоль) у EtOH (100мл) обробляли 2-метил-масляним альдегідом (4мл, 35.1мМоль) і Pt_2 (0.5г) і струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 2 годин. Реакційну суміш фільтрували, обробляли 1N HCl/Et₂O (12мл), концентрували під вакуумом, розчиняли в гарячому i-PrOH (10мл), розбавляли ацетоном (600мл), охолоджували до 0°C і фільтрували з одержанням 1.58г (49%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 242 (M+1 для $C_{14}H_{27}N_1O_2$); $T_{пл}$ 162-163°C; Мікроаналіз ($C_{14}H_{27}N_1O_2$) (розрахунок) C: 60.52 H: 10.16 N: 5.04 (результат аналізу) C: 60.41, H: 10.26, N: 4.95. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.95 (t, 3H, J=7.3Гц), 1.02 (d, 3H, J=6.6Гц), 1.20-1.31 (m, 1H), 1.42-1.56 (m, 11H), 1.81-1.89 (m, 1H), 2.63 (dd, 2H, J=18.3, 16.1Гц), 2.82 (dd, 1H, J=12.5, 8.3Гц), 2.99 (12.5, 6.1Гц), 3.07 (dd, 2H, J=25.6, 12.9Гц).

ПРИКЛАД 27 {1-[(4,4,4-трифтор-бутиламіно)-метил]-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид був синтезований способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували 4-трифтормасляний альдегід (вихід 19%).

Мас-спектрометрія: 282.1 (M+1 для $C_{13}H_{22}N_1O_2F_3$); $T_{пл}$ 163-164°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{22}N_1O_2F_3 \cdot HCl \cdot 0.05H_2O$) (розрахунок) C: 49.00 H: 7.31, N: 4.40 (результат аналізу) C: 48.60, H: 7.29, N: 4.19. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.40-1.54 (m, 11H), 1.96-2.04 (m, 2H), 2.2-6-2.38 (m, 2H), 2.57 (s, 2H), 3.09-3.13 (m, 4H).

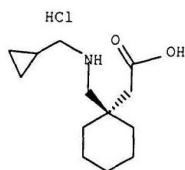
ПРИКЛАД 28 (1-етиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Сполуку прикладу 28 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували ацетальдегід (вихід 30%).

Мас-спектрометрія: 200.1 (M+1 для $C_{11}H_{21}N_1O_2$); $T_{пл}$ 160-166°C; Мікроаналіз ($C_{11}H_{21}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 56.04 H: 9.41, N: 5.94 (результат аналізу) C: 55.98, H: 9.36, N: 5.79. 1H ЯМР (CD_3OD) δ 1.31-1.54 (m, 13H), 2.54-2.56 (m, 2H), 3.06-3.13 (m, 4H).

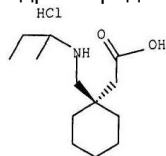
ПРИКЛАД 29 {1-[(циклопропілметил-аміно)-метил]-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид



Сполуку прикладу 29 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували циклопропанкарбокси-альдегід (вихід 62%).

Мас-спектрометрія: 226 (M+1 для $C_{13}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 177-178°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{23}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 59.64 H: 9.24, N: 5.35 (результат аналізу) C: 59.72, H: 9.15, N: 5.27. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.50-0.56 (m, 2H), 0.71-0.746 (m, 2H), 1.05-1.30 (m, 1H), 1.42-1.54 (m, 10H), 2.52 (s, 2H), 2.94 (d, 2H, $J=7.3$ Гц), 3.10 (s, 2H).

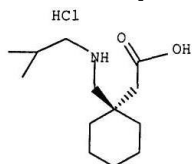
ПРИКЛАД 30 {1-[(2-гідрокси-1-метил-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 30 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували 1-гідрокси-2-пропанон (вихід 60%).

Мас-спектрометрія: 230 (M+1 для $C_{12}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 164-165°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{23}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 54.23 H: 9.10, N: 5.27 (результат аналізу) C: 54.23, H: 9.01, N: 5.18. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.30-1.32 (m, 3H), 1.44-1.55 (m, 10H), 2.60 (s, 2H), 3.11 (m, 2H), 3.28 (br., 2H), 3.37 (br., 1H), 3.57-3.61 (m, 1H), 3.78-3.81 (m, 1H).

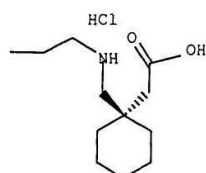
ПРИКЛАД 31 [1-(ізобутиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 31 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували циклопропанкарбокси-альдегід (вихід 35%).

Мас-спектрометрія: 228 (M+1 для $C_{13}H_{25}N_1O_2$); $T_{пл}$ 175-176°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{25}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 59.19 H: 9.93, N: 5.51 (результат аналізу) C: 59.28, H: 9.98, N: 5.24. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.03 (d, 6H, $J=6.9$ Гц), 1.37-1.60 (m, 10H), 2.10-2.17 (m, 1H), 2.63 (s, 2H), 2.87 (d, 2H, $J=7.4$ Гц), 3.07 (s, 2H).

ПРИКЛАД 32 (1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:

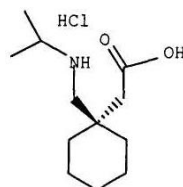


Сполуку прикладу 32 синтезували способом

прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували пропіоновий альдегід.

Мас-спектрометрія: 214.1 (M+1 для $C_{12}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 174-177°C; Мікроаналіз ($C_{12}H_{23}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 57.70 H: 9.69, N: 5.61 (результат аналізу) C: 57.55, H: 9.77, N: 5.48. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.93 (t, 1H, $J=6.3$ Гц), 0.99-1.03 (m, 4H), 1.40-1.54 (m, 13H), 1.72-1.78 (m, 2H), 2.96-3.29 (m, 2H).

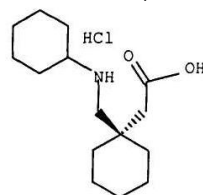
ПРИКЛАД 33 [1-(ізопропіламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 33 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували ацетон.

Мас-спектрометрія: 214.1 (M+1 для $C_{12}H_{23}N_1O_2$); $T_{пл}$ 193-194°C; 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.29-1.57 (m, 18H), 2.59 (s, 2H), 3.07 (s, 2H), 3.38-3.42 (m, 1H).

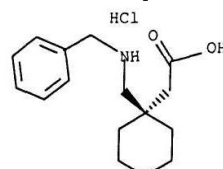
ПРИКЛАД 34 (1-циклогексиламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 34 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували циклогексанон (вихід 48%).

Мас-спектрометрія: 254 (M+1 для $C_{15}H_{27}N_1O_2$); $T_{пл}$ 198-199°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{27}N_1O_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 62.12 H: 9.74, N: 4.83 (результат аналізу) C: 62.18, H: 9.84, N: 4.75. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.20-1.60 (m, 16H), 1.63-1.76 (m, 1H), 1.88 (br., 2H), 2.13 (br., 2H), 2.60 (m., 2H), 3.09 (m., 3H).

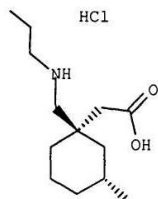
ПРИКЛАД 35 [1-(бензиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид:



Сполуку прикладу 35 синтезували способом прикладу 26, за винятком того, що замість 2-метилмасляного альдегіду використовували бензальдегід.

Мас-спектрометрія: 262.0 (M+1 для $C_{16}H_{23}N_1O_2$); $T_{п.}$ 125-135°C; 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.38-1.49 (m, 11H), 2.55 (s, 2H), 3.07 (s, 2H), 4.23 (s, 2H), 7.43-7.49 (m, 5H).

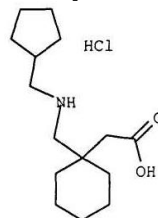
ПРИКЛАД 36 ((1R,3R)-3-метил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



((1R,3R)-1-амінометил-3-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (Приклад 1, 1.1г, 4.9мМоль) розчиняли в етанолі (95мл) і обробляли 1N NaOH (5мл). Додавали пропіоновий альдегід (4.9мл) і потім 10% Pd/C (0.5г), після чого реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 15.75 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (20мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл), фільтрували і концентрували під вакуумом. Потім залишок розчиняли в ізопропанолі (10мл) і перекристалізовували з ацетону. Тверду фазу відфільтровували і фільтрат охолоджували протягом ночі, домагаючись вторинного випадіння кристалів. Тверді залишки поєднували з одержанням необхідного продукту (0.78г, 66%).

Мас-спектрометрія: 228.1 (M+1 для $C_{13}H_{25}NO_2$); $T_{пл}$ 179-179.5°C; Мікроаналіз ($C_{13}H_{25}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 59.19 H: 9.93, N: 5.31 (результат аналізу) C: 59.27, H: 9.97, N: 5.07. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2929 (br), 1717, 1188. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.84-1.03 (m, 8H), 1.12-1.17 (m, 1H), 1.46-1.79 (m, 8H), 2.43 (s, 2H), 3.00 (t, 2H, $J=7.8$ Гц), 3.22 (s, 2H).

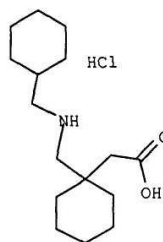
ПРИКЛАД 37 {1-[циклопентилметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид:



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (3.0г, 17.5мМоль) розчиняли в етанолі (45мл). Додавали циклопентанкарбальдегід (5мл, 3екв.) і обробляли реакційну суміш Pt_2 (0.25г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 16.5 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (20мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Потім залишок перекристалізовували з гарячого ізопропанолу й ацетону з одержанням необхідного продукту (2.32г, 52%).

Мас-спектрометрія: 254.1 (M+1 для $C_{15}H_{27}NO_2$); $T_{пл}$ 172-173°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{27}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 62.16 H: 9.74, N: 4.83 (результат аналізу) C: 61.92, H: 9.88, N: 4.86. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2930, 2854, 2509, 1689, 1455, 1211. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.23-1.32 (m, 2H), 1.41-1.73 (m, 16H), 1.90 (m, 1H), 2.63 (s, 2H), 3.01 (d, 2H, $J=7.6$ Гц), 3.09 (s, 2H).

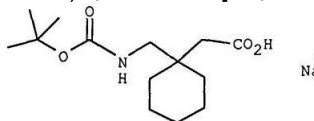
ПРИКЛАД 38 {1-[(циклогексилметил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид:



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (3.0г, 17.5мМоль) розчиняли в етанолі (45мл). Додавали циклогексанкарбальдегід (5мл, 3екв.) і обробляли реакційну суміш Pt_2 (0.25г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 16.5 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (20мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Потім залишок перекристалізовували з гарячого ізопропанолу й ефіру з одержанням необхідного продукту (3.57г, 67%).

Мас-спектрометрія: 268.1 (M+1 для $C_{15}H_{27}NO_2$); $T_{пл}$ 167.5-168°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{27}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 63.24 H: 9.95, N: 4.61 (результат аналізу) C: 63.14, H: 10.01, N: 4.45. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2926, 2851, 1718, 1684. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.03 (m, 1H), 1.20-1.85 (m, 20H), 2.63 (s, 2H), 2.88 (d, 2H, $J=6.8$ Гц), 3.07 (s, 2H).

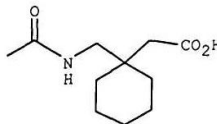
ПРИКЛАД 39: [1-(трет-бутоксикарбоніл-аміно)-метил]-циклогексил]-оцтова кислота:



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (10.0г, 58.4мМоль) розчиняли в ТГФ (280мл) і обробляли 1N NaOH (128.5мл). Реакційну суміш охолоджували до 0°C і невеликими порціями при ретельному перемішуванні додавали ди-трет-бутилдикарбонат. Суміші дозволяли прогрітися до кімнатної температури і перемішували її протягом ночі. Потім ТГФ випарювали, а водну фазу промивали етилацетатом (3x50мл). Водну фазу підкисляли KH_2PO_4 (44г) і спостерігали піноутворення. Поступово піна перетворювалася в білий осад. Суміш перемішували 2 години, поступово, дуже повільно, додаючи KH_2PO_4 (1г). Осад відфільтровували і промивали водою з одержанням необхідного продукту (15.2г, 96%).

Мас-спектрометрія: 272.1 (M+1 для $C_{14}H_{25}NO_4$); $T_{пл}$ 181 °C; Мікроаналіз ($C_{14}H_{25}NO_4$) (розрахунок) C: 59.52 H: 9.36, N: 4.76 (результат аналізу) C: 59.51, H: 9.03, N: 4.87. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 3413, 3054, 2933 (br), 1709, 1666, 1531, 1248. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.03 (m, 1H), 1.27-1.58 (m, 19H), 2.29 (s, 2H), 3.12 (d, 2H, $J=6.8$ Гц), 4.97 (br, 1H).

ПРИКЛАД 40: [1-(ацетиламіно)-метил]-циклогексил]-оцтова кислота

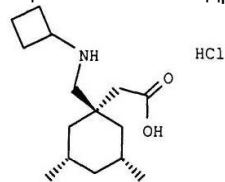


(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту

(2.0г, 11.7ммоль) розчиняли в H_2O (20мл) потім додавали NaOH (3.1г, 77.5ммоль, 6.6екв.) і оцтовий ангідрид (1.8мл, 19.3ммоль, 1.7екв.). Реакційну суміш залишали перемішуватися при кімнатній температурі на 2 дні. Потім додавали 1N HCl (125мл) і реакційну суміш екстрагували EtOAc (125мл). Органічну фазу відокремлювали, сушили над Na_2SO_4 і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в H_2O (100мл) обробляли NaOH (0.12г) і концентрували під вакуумом. Зразок потім піддавали флеш-хроматографії, елюючи 6% MeOH/ CH_2Cl_2 , з одержанням необхідного продукту (0.31г, 12%).

Мас-спектрометрія: 214.1 (M+1 для $C_{11}H_{19}NO_3$); $T_{пл}$ 107-108°C; Мікроаналіз ($C_{11}H_{19}NO_3$) (розрахунок) C: 61.95 H: 8.98, N: 6.57 (результат аналізу) C: 61.96, H: 9.03, N: 6.54. ТШХ: 0.31 6% MeOH/ CH_2Cl_2 ; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 3286, 3120, 2932, 2440, 1714, 1576, 1419, 1333, 1208. 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ : 1.25-1.51 (m, 10H), 2.06 (s, 3H), 2.28 (s, 2H), 3.26-3.29 (m, 2H), 6.32 (br, 1H).

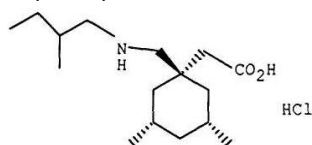
ПРИКЛАД 41 ((3R,5S)-1-(циклобутиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (0.76г, 3.2ммоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (3.2мл). Потім послідовно додавали циклобутанон (1мл, 6екв.) і Pt_2 (0.2г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 16 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (35мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (150мл) і фільтрували. Потім додавали ацетон (100мл) і ефір (600мл), який попередньо остидили до 0°C. Розчин залишали при 0°C на 2 години для утворення кристалів. Кристали збирали і промивали ефіром і ацетоном (0.38г, 41%).

Мас-спектрометрія: 254.1 (M+1 для $C_{15}H_{27}NO_2$); $T_{пл}$ 200-201°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{27}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 62.16 H: 9.74, N: 4.83 (результат аналізу) C: 62.09, H: 9.72, N: 4.68. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2926, 1720, 1189. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.48-0.57 (m, 1H), 0.85-0.92 (m, 8H), 1.60-1.73 (m, 5H), 1.78-1.93 (m, 2H), 2.22-2.38 (m, 4H), 2.42 (s, 2H), 3.11 (s, 2H), 3.72-3.78 (m, 1H).

ПРИКЛАД 42 ((3R,5S)-3,5-диметил-1-(2-метилбутиламіно)-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:

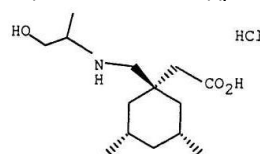


((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (1.0г, 4.4ммоль) розчиняли в етанолі (47мл) і обробляли 1N NaOH (4.4мл). Потім послідовно додавали ізо-

масляний альдегід (1мл, 3екв.) і Pt_2 (0.17г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 3 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (10мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл) і фільтрували. Потім концентрували під вакуумом і перекристалізовували з ацетону і гексану. Кристали збирали і промивали гексаном з одержанням необхідного продукту (0.89г, 75%).

Мас-спектрометрія: 270.1 (M+1 для $C_{16}H_{31}NO_2$); $T_{пл}$ 171-173°C; Мікроаналіз ($C_{16}H_{31}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 62.82 H: 10.54, N: 4.58 (результат аналізу) C: 62.59, H: 10.43, N: 4.52. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2964 (br), 1721, 1485, 1186, 840. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.48-0.57 (m, 1H), 0.81-1.07 (m, 12H), 1.23-1.27 (m, 1H), 1.45-1.72 (m, 6H), 1.83-1.91 (m, 1H), 2.50 (s, 2H), 2.83 (dd, 1H, J=8.3, 12.5Гц), 3.00 (dd, 1H, J=6.1, 12.5Гц), 3.13-3.29 (m, 4H).

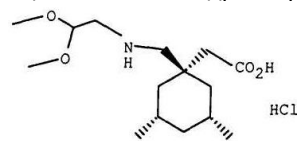
ПРИКЛАД 43 ((3R,5S)-1-[(2-гідрокси-1-метилетиламіно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (1.0г, 4.3ммоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (4.3мл). Потім послідовно додавали 1-гідрокси-пропан-2-он (1мл, 3екв.) і Pt_2 (0.15г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 82 годин. Додавали Pt_2 (0.1г) і 1-гідрокси-пропан-2-он (1мл) і реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 24 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1M HCl (35мл) в ефірі, після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (150мл) і фільтрували. Потім концентрували під вакуумом і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу, ацетону й ефіру. Кристали збирали і промивали ефіром, а також ацетоном і сушили. (0.30г, 1.04ммоль, 24%).

Мас-спектрометрія: 258.1 (M+1 для $C_{14}H_{27}NO_3$); $T_{пл}$ 178-179°C; Мікроаналіз ($C_{14}H_{27}NO_3 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 57.23 H: 9.60, N: 4.77 (результат аналізу) C: 56.77, H: 9.39, N: 4.45. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 3349, 2897, 1704, 1419, 1194. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.48-0.57 (m, 1H), 0.82-0.90 (m, 8H), 1.25-1.32 (m, 4H), 1.60-1.75 (m, 5H), 2.47 (s, 2H), 3.23 (d, 2H, J=5.1Гц), 3.38 (m, 1H), 3.58 (dd, 1H, J=12.0, 7.1Гц), 3.79 (dd, 1H, J=12.0, 4.2Гц).

ПРИКЛАД 44 ((3R,5S)-1-[(2,2-диметоксиетиламіно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:

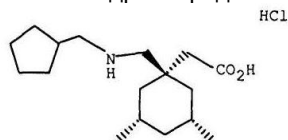


((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (1.0г,

4.3мМоль) розчиняли в етанолі (47мл). Потім додавали гліоксаль 1,1-диметилацеталь (3.7мл, 3.0екв.) і обробляли суміш Pt_2 (0.17г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 3 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1М HCl в ефірі (10мл), після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл) і фільтрували. Потім фільтрат концентрували і залишок перекристалізовували з ацетону і гексану з одержанням необхідного продукту (0.92г, 75%).

Мас-спектрометрія: 288.1 (M+1 для $C_{15}H_{29}NO_4$); $T_{пл}$ 125°C; Мікроаналіз ($C_{15}H_{29}NO_4 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 55.63 H: 9.34, N: 4.32 (результат аналізу) C: 55.29, H: 9.48, N: 4.18. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2949, 1715, 1457, 1191, 1134, 1077. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.47-0.56 (m, 1H), 0.81-0.90 (m, 8H), 1.59-1.71 (m, 5H), 2.46 (s, 2H), 3.18 (d, 2H, $J=5.1, 7$ Гц), 3.26-3.29 (m, 2H), 3.45-3.47 (m, 6H), 4.73 (t, 1H, $J=5.1$ Гц).

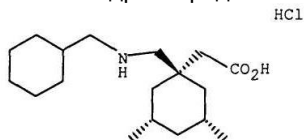
ПРИКЛАД 45 {(3R,5S)-1-[(циклопентилметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид:



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (1.0г, 4.1мМоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (4.2мл). Потім послідовно додавали циклопентанкарбальдегід (1.5мл, 3екв.) і Pt_2 (0.2г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 12 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1М HCl в ефірі (35мл), після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (150мл) і фільтрували. Потім розчин концентрували під вакуумом і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу, ацетону й ефіру. Кристали збирали і промивали ефіром і ацетоном (0.40г, 27%).

Мас-спектрометрія: 282.1 (M+1 для $C_{17}H_{31}NO_2$); $T_{пл}$ 187-188°C; Мікроаналіз ($C_{17}H_{31}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 64.23 H: 10.15, N: 4.41 (результат аналізу) C: 64.11, H: 10.04, N: 4.34. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2952, 1720, 1452, 1185. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.48-0.57 (m, 1H), 0.81-0.90 (m, 8H), 1.25-1.32 (m, 2H), 1.60-1.71 (m, 9H), 1.89-1.93 (m, 2H), 2.25-2.29 (m, 1H), 2.49 (s, 2H), 3.01 (d, 2H, $J=7.6$ Гц), 3.20 (s, 2H).

ПРИКЛАД 46 {(3R,5S)-1-[(циклогексилметил-аміно)-метил]-3,5-диметил-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид:

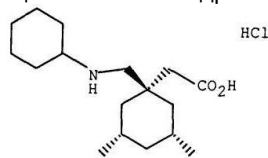


((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (1.0г, 4.2мМоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (4.3мл). Потім послідовно додавали циклогексанкарбальдегід (1.5мл, 3екв.) і Pt_2 (0.15г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2

(50psi) протягом 17 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1М HCl в ефірі (35мл), після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (150мл) і фільтрували. Потім розчин концентрували під вакуумом і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу, ацетону й ефіру. Кристали збирали і промивали ефіром і ацетоном (0.46г, 34%).

Мас-спектрометрія: 296.2 (M+1 для $C_{18}H_{33}NO_2$); $T_{пл}$ 176-177°C; Мікроаналіз ($C_{18}H_{33}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 65.13 H: 10.32, N: 4.22 (результат аналізу) C: 64.89, H: 10.36, N: 4.09. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2919, 2851, 1721, 1453, 1192. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.48-0.57 (m, 1H), 0.81-0.90 (m, 8H), 1.00-1.36 (m, 5H), 1.60-1.71 (m, 11H), 2.49 (s, 2H), 2.88 (d, 2H, $J=6.8$ Гц), 3.18 (s, 2H).

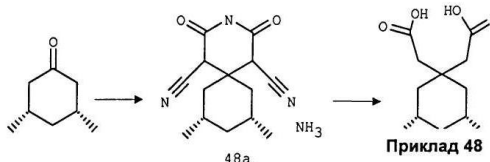
ПРИКЛАД 47 ((3R,5S)-1-циклогексиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид:



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (0.99г, 4.2мМоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (4.2мл). Потім послідовно додавали циклогексанон (1.5мл, 3екв.) і Pt_2 (0.2г). Потім реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) протягом 17 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1М HCl в ефірі (35мл), після чого розчин концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (150мл) і фільтрували. Потім розчин концентрували під вакуумом і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу, ацетону й ефіру. Кристали збирали і промивали ефіром і ацетоном (0.33г, 25%).

Мас-спектрометрія: 282.1 (M+1 для $C_{17}H_{31}NO_2$); $T_{пл}$ 210°C; Мікроаналіз ($C_{17}H_{31}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 64.23 H: 10.15, N: 4.41 (результат аналізу) C: 63.89, H: 9.98, N: 4.33. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2921, 1691, 1452, 1216. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.47-0.57 (m, 1H), 0.82-0.90 (m, 8H), 1.30-1.46 (m, 5H), 1.57-1.63 (m, 2H), 1.69 (d, 4H, $J=12.9$ Гц), 1.86 (d, 2H, $J=12.5$ Гц), 2.13 (d, 2H, $J=10.3$ Гц), 2.46 (s, 2H), 3.04-3.10 (m, 1H), 3.21 (s, 2H).

ПРИКЛАД 48: ((3R,5S)-1-карбоксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтова кислота



Етап і: синтез (8R,10S)-8,10-диметил-2,4-діоксо-3-азо-спіро[5,5]ундекан-1,5-дикарбонітрилу амонієва сіль (48a): розчин абсолютного етанолу (40мл) охолоджували до 0°C і насичували газоподібним NH_3 , потім обробляли цис-3,5-диметил-циклогексаном (5.0г, 39.62мМоль) і етилціаноацетатом (8.43мл, 79.24мМоль). Колбу щільно закривали, дозволяли прогрітися до кімнатної тем-

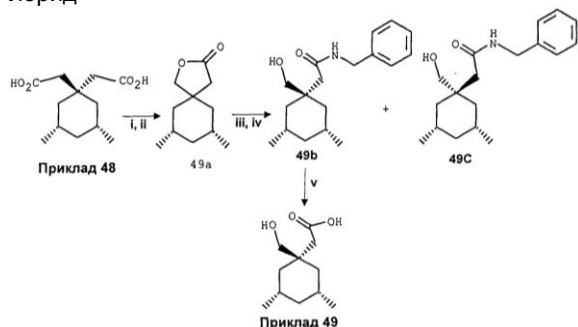
ператури і перемішували протягом ночі. Осад відфільтровували, промивали Et₂O і сушили під вакуумом з одержанням 6.04г (59%) необхідного продукту у вигляді бліднозбарвленого твердої речовини.

Мас-спектрометрія: 260.1 (M+1 для C₁₄H₁₇N₃O₂); Мікроаналіз (C₁₄H₁₇N₃O₂·NH₃·0.88 H₂O) (розрахунок) C: 57.55 H: 7.51, N: 19.17 (результат аналізу) C: 57.67, H: 7.45, N: 19.06. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 3298, 2954, 2172, 1700, 1575. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ: 0.46-0.50 (m, 1H), 0.82-1.17 (m, 1H), 1.65-1.98 (m, 3H), 3.58 (dd, 2H, J=13.9, 6.8Гц).

Етап ii: синтез сполуки прикладу 48: (8S,10R)-8,10-диметил-2,4-діоксо-3-азо-спіро[5,5]ундекан-1,5-дикарбонітрил (48а, 25.36г, 97.8мМоль) обробляли концентрованою H₂SO₄ (102мл) і водою (30мл). Реакційну суміш нагрівали до 150°C на 5 годин, потім дозволяли охолонути до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували, тверду фазу збирали і розчиняли в 1N NaOH. Цей розчин фільтрували і фільтрат підкисляли концентрованою HCl (40мл). Осад збирали і сушили протягом ночі під високим вакуумом. Сполуку потім розчинили в гарячому ізопропанолі (100мл) і перекристалізовували з води з одержанням необхідного продукту (13.21г, 59%).

Мас-спектрометрія: 229.1 (M+1 для C₁₂H₂₀O₄); Мікроаналіз (C₁₂H₂₀O₄) (розрахунок) C: 63.14 H: 8.83, (результат аналізу) C: 63.36, H: 8.92. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2950, 2913, 1698. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 0.40-0.48 (m, 1H), 0.77-0.85 (m, 8H), 1.57-1.77 (m, 5H), 2.41 (s, 2H), 2.56 (s, 2H).

ПРИКЛАД 49: транс-((3R,5S)-1-гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідролорид



Етапи i і ii: синтез (цис/транс)-(7S,9R)-7,9-диметил-2-окса-спіро-[4,5]декан-3-ону (49а):

(i). Бікарбоніву кислоту (48, 6.36г, 27.9мМоль) суспендували в H₂O (93мл), обробляли гідроокисом амонію (3ю 5мл) і нітратом срібла (4.73г, 27.9мМоль) і перемішували 20 хвилин при кімнатній температурі. Реакційну суміш фільтрували і твердий залишок тричі розмішували з H₂O, потім сушили під вакуумом у темряві два дні при 50°C з одержанням 6.41г бінарної солі срібла, яку негайно використовували далі. (ii). Бінарну сіль срібла (1.24г, 2.81мМоль) поміщали в темну колбу, обробляли CCl₄ (50мл) і йодом (0.72г, 2.81мМоль) і тримали при 75°C протягом ночі. Реакційну суміш фільтрували, концентрували під вакуумом і хроматографували на силікагелі, елюючи 4:1 гексан/EtOAc з одержанням 0.37г (72%) необхідного

продукту у вигляді слабкозбарвленого масла (49а).

Мас-спектрометрія: 183.0 (M+1 для C₁₁H₁₈O₂); Мікроаналіз (C₁₁H₁₈O₂·0.05H₂O) (розрахунок) C: 72.13 H: 9.96, (результат аналізу) C: 71.77, H: 9.69. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 3298, 2954, 2172, 1700, 1575, 1450, 1337. ¹H ЯМР (CDCl₃, -1:1 суміш цис/транс діастереомерів) δ: 0.49-0.59 (m, 1H), 0.82-1.02 (m, 10H), 1.42-1.53 (m, 2H), 1.58-1.72 (m, 3H), 2.30 (s, 1H, для одного ізомера), 2.39 (s, 1H, для іншого ізомера 2), 3.96 (s, 1H, для одного ізомера), 4.10 (s, 1H, для іншого ізомера).

Етап iii: синтез (цис/транс)-N-бензил-2-((3R,5S)-1-гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-ацетаміду (49b і 49c): лактон (49а, 0.85г, 4.66мМоль) розчиняли в ТГФ (18мл), обробляли бензиламіном (0.61мл, 5.60мМоль) і кип'ятили під зворотним холодильником два дні. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли EtOAc, промивали насиченим розчином бікарбонату натрію і сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄ і концентрували під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 1:1 гексан/EtOAc з одержанням 0.79г (59%) необхідного продукту у вигляді прозорого масла (суміш цис- і транс- ізомерів, 49b і 49c).

Мас-спектрометрія: 290.1 (M+1 для C₁₈H₂₇N₁O₂); масло; ТШХ: Si₂, R_F0.16 (2:1 гексан/EtOAc) Мікроаналіз (C₁₈H₂₇N₁O₂) (розрахунок) C: 74.70 H: 9.40, N: 4.84 (результат аналізу) C: 74.41, H: 9.35, N: 4.57.

Етап iv: поділ 49b і 49c: суміш цис- і транс-ізомерів (49b і 49c) була розділена за допомогою препаративної ВЕРХ (стовпчик 318, елювання градієнтом 60% CH₃CN/40% H₂O 5 хвилин, потім 45% CH₃CN/55% H₂O 35 хвилин, усі рухомі фази включали 0.05% ТФО).

Транс-ізомер (49b): RT=23.600хв., вихід 54мг. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 0.36-0.62 (m, 3H), 0.82 (d, 6H, J=6.3Гц), 1.39-1.70 (m, 5H), 2.14 (s, 2H), 2.58 (br, 1H), 3.60 (s, 2H), 4.43 (d, 2H, J=5.9Гц), 5.97 (br, 1H), 7.26-7.37 (m, 5H).

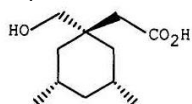
Цис-ізомер (49c): RT=25.828хв., вихід 87мг. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ: 0.47-0.56 (m, 1H), 0.65 (t, 2H, J=13.2Гц), 0.85 (d, 6H, J=6.3Гц), 1.47-1.68 (m, 5H), 2.38 (s, 2H), 2.58 (br, 1H), 3.40 (s, 2H), 4.45 (d, 2H, J=5.9Гц), 6.03 (br, 1H), 7.28-7.36 (m, 5H).

Етап v: Синтез сполуки прикладу 49: транс-ізомер N-бензил-2-(1-гідроксиметил-циклогексил)-ацетаміду (49b, 87мг, 0.303мМоль) брали після ВЕРХ, розчиняли в 5мл води й обробляли 24мг NaOH. Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником 3 дні. Потім її охолоджували до кімнатної температури, розбавляли 1N NaOH і екстрагували EtOAc. Водну фазу підкисляли концентрованою HCl (5мл), потім розбавляли 1N HCl і продукт екстрагували EtOAc. Органічну фазу промивали сольовим розчином і сушили над Na₂SO₄. Розчин концентрували з одержанням 23мг (61%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 201 (M+1 для C₁₁H₂₀O₃); ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 0.48-0.57 (m, 1H), 0.88-1.00 (m, 8H), 1.40-1.49 (m, 2H), 1.68-1.70 (m, 3H), 2.28 (s, 2H), 4.11 (s, 2H).

ПРИКЛАД 50: цис-((3R,5S)-1-гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрох-

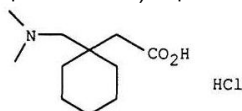
лорид



Цис-ізомер N-бензил-2-(1-гідроксиметил)-циклогексил)-ацетаміду (49г, 87мг, 0.303моль) брали після ВЕРХ, розчиняли в 5мл води й обробляли 24мг NaOH. Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником 3 дні, потім охолоджували до кімнатної температури, розбавляли 1N NaOH і екстрагували EtOAc. Водну фазу підкисляли концентрованою HCl (5мл), потім розбавляли 1N HCl і продукт екстрагували EtOAc. Органічну фазу промивали сольовим розчином і сушили над Na₂SO₄. Розчин концентрували з одержанням 43мг (71%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 201.1 (M+1 для C₁₁H₂₀O₃); ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 0.48-0.57 (m, 1H), 0.88-0.96 (m, 8H), 1.42-1.50 (m, 2H), 1.59-1.69 (m, 3H), 2.37 (s, 2H), 3.94 (s, 2H).

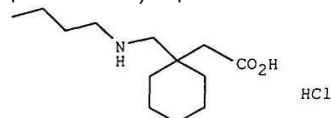
ПРИКЛАД 51: (1-диметиламінометил)-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (0.51г, 3.0моль) розчиняли в етанолі і додавали формальдегід (3мл, 2екв.). Потім додавали 10% Pd/C (1.6г) і струшували реакційну суміш при кімнатній температурі в атмосфері водню при 760 Торр протягом 12 годин. Реакційну суміш потім обробляли HCl поки pH не досяг приблизно 2, після чого перекристалізовували з ацетону й ефіру з одержанням 1.62г (87%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 200.1 (M+1 для C₁₁H₂₁NO₂); T_{пл} 140-142°C; Мікроаналіз (C₁₁H₂₁NO₂) (розрахунок) C: 54.99 H: 9.44, N: 5.83; (результат аналізу) C: 54.90, H: 9.36, N: 6.22. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 1.42-1.59 (m, 10H), 2.63 (s, 2H), 2.96 (s, 6H), 3.26-3.29 (m, 2H).

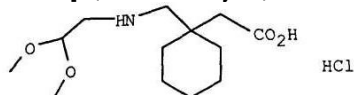
ПРИКЛАД 52: (1-бутиламінометил)-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (0.86г, 5.0моль) розчиняли в етанолі (100мл) і додавали Pd/C (10%, 0.86г) і масляний альдегід (1.44г, 3екв.). Реакційну суміш помістили в атмосферу водню при 760 Торр і тримали при кімнатній температурі, поки реакція не завершилася. Потім її фільтрували, підкисляли і концентрували. Залишок розчиняли в ізопропанолі, фільтрували і перекристалізовували з ацетону й ефіру з одержанням необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 228.1 (M+1 для C₁₃H₂₅NO₂); T_{пл} 142-154°C; Мікроаналіз (C₁₃H₂₅NO₂·HCl) (розрахунок) C: 59.19 H: 9.93, N: 5.31; (результат аналізу) C: 58.85, H: 9.86, N: 5.05. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 0.98 (t, 3H, J=7.3Гц), 1.39-1.54 (m, 12H), 1.66-1.72 (m, 2H), 2.57 (s, 2H), 3.01 (t, 2H, J=9.3Гц), 3.09 (s, 2H).

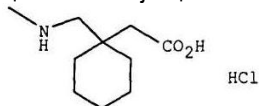
ПРИКЛАД 53: {1-[(2,2-диметокси-етиламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (2.0г, 11.7моль) розчиняли в етанолі (100мл). Потім додавали гліоксаль 1,1-диметилацеталь (3.7мл, 3екв.) і обробляли реакційну суміш Pt₂ (0.5г). Реакційну суміш струшували в атмосфері H₂ (50psi) 4 години. Потім її фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (15мл) і концентрували під вакуумом. Залишок перекристалізовували з гарячого ізопропанолу (25мл) і ацетону (700мл) з одержанням 0.44г (52%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 260.1 (M+1 для C₁₃H₂₅NO₄); T_{пл} 128-129°C; Мікроаналіз (C₁₃H₂₅NO₄·HCl) (розрахунок) C: 52.79 H: 8.86, N: 4.74; (результат аналізу) C: 52.84, H: 8.94, N: 4.67. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2926, 1693, 1457, 1208, 1087. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 1.40-1.55 (m, 10H), 2.60 (s, 2H), 3.13 (s, 2H), 3.17 (d, 2H, J=4.9Гц), 3.45 (s, 6H), 4.72 (t, 1H, J=5.1Гц).

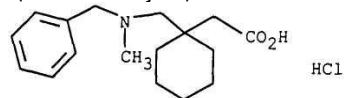
ПРИКЛАД 54: (1-метиламінометил)-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



{1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид (Приклад 55, 4.1г, 13.2моль) розчиняли в 95% етанолі (250мл). Потім додавали 10% Pd/C (1г) і струшували реакційну суміш при кімнатній температурі в атмосфері водню при 760 Торр 1 годину. Потім її фільтрували, концентрували і перекристалізовували з ацетону й ефіру з одержанням 2.69г (92%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 186.0 (M+1 для C₁₀H₁₉NO₂); T_{пл} 158-162°C; Мікроаналіз (C₁₀H₁₉NO₂·HCl) (розрахунок) C: 53.09 H: 9.13, N: 6.19; (результат аналізу) C: 53.14, H: 8.96, N: 6.34. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 1.42-1.54 (m, 10H), 2.50-2.53 (m, 2H), 2.71-2.74 (m, 3H), 3.09-3.11 (m, 2H).

ПРИКЛАД 55: {1-[(Бензил-метил-аміно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид

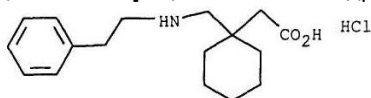


[1-(Бензиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид (0.49г, 1.7моль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (1.8мл). Додавали формальдегід (1мл, 5екв.) і обробляли суміш Pt₂ (0.2г). Реакційну суміш струшували в атмосфері H₂ (50psi) 30 годин. Потім її фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (10мл) і концентрували під вакуумом. Одержували 0.31г (1.14моль, 67%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 274.1 (M-1 для C₁₇H₂₅NO₂); масло; ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 3205, 2930, 2261, 1684, 1451, 1198. Мас-спектрометрія високого розділення: (розрахунок) 276.1963 (результат аналізу) 276.1973 (M+1 для C₁₇H₂₅NO₂); ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 1.33-1.63 (m, 13H), 2.28 (s, 2H), 3.06 (s,

2H), 4.40 (s, 2H), 7.21-7.34 (m, 5H).

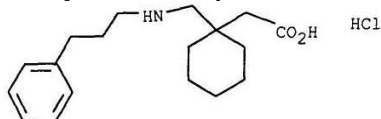
ПРИКЛАД 56: [1-(фенетиламіно-метил)-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (2.0г, 11.7мМоль) розчиняли в етанолі (100мл). Додавали феніл-ацетальдегід (4мл, 3екв.) і обробляли реакцію 10% Pd/C (0.5г). Реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) 3 години. Потім її фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (20мл) і концентрували під вакуумом. Залишок перекристалізовували з гарячого ізопропанолу й ефіру з одержанням 0.15г (4.1%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 276.1 (M+1 для $C_{17}H_{25}NO_2$); $T_{пл}$ 182-183°C; Мікроаналіз ($C_{17}H_{25}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 64.54 H: 8.46, N: 4.43; (результат аналізу) C: 64.54, H: 8.35, N: 4.34. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2929, 2855, 2813, 1693, 1455, 1220. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.38-1.58 (m, 10H), 2.56 (s, 2H), 3.01-3.06 (m, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.23-3.29 (m, 2H), 7.21-7.34 (m, 5H).

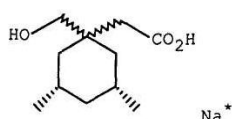
ПРИКЛАД 57: {1-[(3-феніл-пропіламіно)-метил]-циклогексил}-оцтової кислоти гідрохлорид



(1-амінометил-циклогексил)-оцтову кислоту (2.0г, 11.7мМоль) розчиняли в етанолі (100мл). Додавали 3-феніл-пропіоновий альдегід (4.6мл, 3екв.) і обробляли реакцію 10% Pd/C (0.5г). Реакційну суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) 3 години. Потім її фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (20мл) і концентрували під вакуумом. Залишок перекристалізовували з гарячого ізопропанолу й ефіру з одержанням 0.46г (12%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 290.1 (M+1 для $C_{18}H_{27}NO_2$); $T_{пл}$ 168-169°C; Мікроаналіз ($C_{18}H_{27}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 66.34 H: 8.66, N: 4.40; (результат аналізу) C: 66.48, H: 8.65, N: 4.17. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2932, 2854, 1686, 1454, 1217. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 1.38-1.58 (m, 10H), 2.56 (s, 2H), 2.00-2.04 (m, 2H), 2.56 (s, 2H), 2.71 (t, 2H, J=7.6Гц), 3.01-3.08 (m, 4H), 7.21-7.34 (m, 5H).

ПРИКЛАД 58: ((3R,5S)-1-гідроксиметил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти натрієва сіль

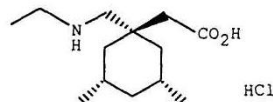


(7R,9R)-7,9-Диметил-2-оксо-спіро[4,5]декан-3-он (49а, 1.04г, 5.71мМоль) розчиняли у воді (25мл) і обробляли NaOH (2.5г). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником 4 години. Потім розчин охолоджували до кімнатної температури, промивали Et_2O і концентрували водну фазу під вакуумом з одержанням твердої речовини (8г). Залишок промивали 1N оцтовою кислотою й екстрагували EtOAc, який потім концентрували. Залишок перекристалізовували з EtOH, MeOH і гексану

з одержанням 0.75г (3.75мМоль, 66%).

Мас-спектрометрія: 199.0 (M-1 для $C_{11}H_{20}O_3$); масло; Мас-спектрометрія високого роздільності (розрахунок) 199.1334 (результат аналізу) 199.1333 (M-1 для $C_{11}H_{20}O_3$); $T_{пл}$ >250°C; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2953, 2910, 1777, 1706, 1458, 1168, 1012.

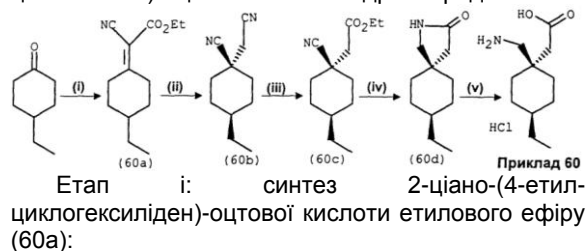
ПРИКЛАД 59: ((3R,5S)-1-етиламінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (59а, 0.418г, 1.8мМоль. Сполуку 59а було одержано згідно за методикою, [описаною в Bryans, J. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1997, 7(19), 2481]), розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (1.8мл). Потім додавали ацетальдегід (0.5мл, 3екв.) і обробляли реакцію Pt_2 (0.2г). Потім суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) 3 години. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (2мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл) і фільтрували. До фільтрату при 0°C додавали гексан (100мл) і збирали осад з одержанням 31мг (0.14мМоль, 8%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 228.1 (M+1 для $C_{13}H_{25}NO_2$); $T_{пл}$ 167-168°C; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2954 (br), 2502, 1685, 1459, 1223. Мікроаналіз ($C_{13}H_{25}NO_2 \cdot HCl$) (розрахунок) C: 56.60 H: 9.98, N: 5.11; (результат аналізу) C: 56.60, H: 9.85, N: 4.77. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.47-0.56 (m, 1H), 0.78-0.89 (m, 8H), 1.30-1.36 (m, 3H), 1.61-1.79 (m, 5H), 2.58 (s, 2H), 2.99-3.10 (m, 4H).

ПРИКЛАД 60: (1-амінометил-4-етил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



4-етилциклогексанон (13.0г, 103.0мМоль) розчиняли в толуолі (150мл) і обробляли ацетатом амонію (0.79г, 10.3мМоль), крижаною оцтовою кислотою (1.2мл) і етилціанацетатом (11.65г, 103.0мМоль). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником 56 годин з пасткою Діна-Старка, потім охолоджували до кімнатної температури і промивали H_2O (2×100мл). Водний шар додатково промивали толуолом (2×150мл). Органічні шари поєднували, сушили над Na_2O_4 і концентрували під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 5:1 гексан/етилацетат з одержанням 19.81г (87%) необхідного продукту у вигляді прозорого жовтого масла (60а).

Мас-спектрометрія: 222.1 (M+1 для $C_{13}H_{19}N_1O_2$); масло; ТШХ: Si_2 , R_f 0.93 (1:1 гексан/ $EtOAc$); ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2931,

2225, 1728, 1602, 1223. ^1H ЯМР (CDCl_3) δ : 0.82 (t, 3H, $J=7.4\text{Гц}$), 1.11-1.38 (m, 7H), 1.39-1.45 (m, 1H), 1.90-2.09 (m, 3H), 2.20-2.28 (m, 1H), 2.91-2.98 (m, 1H), 3.75-3.79 (m, 1H), 4.15-4.20 (m, 2H).

Етап ii: синтез цис-1-ціанометил-4-етил-циклогексанкарбонітрилу (60b):

2-Ціано-(4-етил-циклогексиліден)-оцтової кислоти етиловий ефір (60a, 16.57г, 74.86мМоль) розчиняли в EtOH (100мл) і додавали до суспензії NaCN (3.67г, 74.86мМоль) у EtOH/ H_2O (300мл/16мл). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі, потім охолоджували до кімнатної температури і фільтрували для видалення солі, що випала в осад, (4.58г). Фільтрат концентрували під вакуумом з одержанням прозорого дуже в'язкого масла жовтого кольору. Залишок піддавали флеш-хроматографії на силікагелі, елюючи 16:1 гексан/EtOAc з одержанням 11.82г (77%) (суміш, що складається з 81% цис- і 19% транс-ізомера) продукту у вигляді жовтого масла (60c).

Мас-спектрометрія: іон $M+1$ не спостерігався ($\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2$); масло; ТШХ: Si_2 , $R_f 0.55$ (2:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз ($\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2$) (розрахунок) C: 74.96 H: 9.15, N: 15.89; результат аналізу) C: 74.84, H: 8.97, N: 15.74. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2934, 2240, 1453. ^1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.90 (t, 3H, $J=7.6\text{Гц}$), 1.18-1.47 (m, 7H), 1.83-1.87 (m, 2H), 2.07-2.10 (m, 2H), 2.85 (s, 2H).

Етап iii: синтез цис-(1-ціано-4-етил-циклогексил)-оцтової кислоти етилового ефіру:

цис-1-Ціанометил-4-етил-циклогексанкарбонітрил (60b, 6.16г, 34.95мМоль) розчиняли в EtOH (92мл) і толуолі (92мл), охолоджували до 0°C і насичували газоподібним HCl. Розчин щільно закривали і залишали перемішуватися на ніч при кімнатній температурі. Потім його концентрували під вакуумом з одержанням жовтувато-білої твердої речовини. Залишок розтирали з етиловим ефіром (200мл) і сушили під вакуумом, потім обробляли H_2O (90мл) і додавали 1N HCl (4мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі і через 18 годин у розчині спостерігали утворення крапель жовтого масла. Сполуку екстрагували EtOAc ($3 \times 100\text{мл}$); органічні шари поєднували, промивали сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 і концентрували. Залишок піддавали флеш-хроматографії з 16:1 гексан/EtOAc з одержанням 4.40г (56%) необхідного продукту (60c).

Мас-спектрометрія: 224.1 ($M+1$ для $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_2$); масло; ТШХ: Si_2 , $R_f 0.38$ (CH_2Cl_2); Мікроаналіз ($\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_2$) (розрахунок) C: 69.92 H: 9.48, N: 6.27; результат аналізу) C: 69.97, H: 9.49, N: 6.17. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2930, 2236, 1736, 1187. ^1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.87-0.90 (m, 3H), 1.18-1.46 (m, 10H), 1.77-1.80 (m, 2H), 2.05-2.09 (m, 2H), 2.59 (s, 2H), 4.13-4.15 (m, 2H).

Етап iv: синтез 8-етил-2-азо-спіро[4,5]-декан-3-ону (60d):

цис-(1-Ціано-4-етил-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір (60z, 2.7г, 12.1мМоль) розчиняли в MeOH (250мл) і обробляли 10% Ph $_2$ Pd/C (0.5г), після чого струшували в атмосфері H_2 (50psi) 3 години. Потім реакційну суміш фільтрували, концентрували під вакуумом і хроматографу-

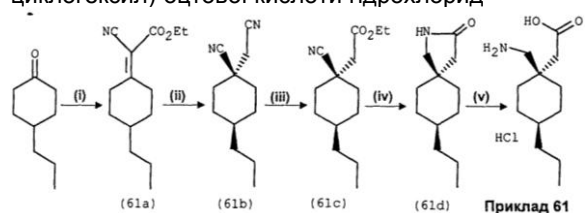
вали на силікагелі, елюючи 3% MeOH/ CH_2Cl_2 з одержанням 1.13г (52%) необхідного продукту у вигляді білої твердої речовини (60d).

Мас-спектрометрія: 181.0 ($M+1$ для $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_1\text{O}_1$); $T_{\text{пл}}$ 131-133 $^\circ\text{C}$; ТШХ: Si_2 , $R_f 0.22$ (4% MeOH/ CH_2Cl_2); Мікроаналіз ($\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_1\text{O}_1$) (розрахунок) C: 72.28 H: 10.08, N: 7.66; (результат аналізу) C: 72.66, H: 10.45, N: 7.26. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 3197, 2918, 1680. ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 0.83-0.97 (m, 5H), 1.06-1.23 (m, 3H), 1.31-1.39 (m, 2H), 1.63-1.67 (m, 4H), 2.09-2.11 (m, 2H), 3.15-3.17 (m, 2H), 5.73 (br, 1H).

Етап v: синтез сполуки прикладу 60: 8-етил-2-азо-спіро[4,5]декан-3-он (60d, 3.8г, 21.1мМоль) обробляли концентрованою HCl (141мл) і гріли при 110 $^\circ\text{C}$ 24 години. Реакційну суміш потім концентрували і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу (20мл) і ацетону з одержанням 3.3г, (16.6мМоль, 79%) продукт.

Мас-спектрометрія: 200.1 ($M+1$ для $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_2$); Мікроаналіз ($\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$) (розрахунок) C: 56.04 H: 9.41, N: 5.94; (результат аналізу) C: 56.06, H: 9.46, N: 5.88. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2916 (br), 1698, 1526, 1281. ^1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.89 (t, 3H, $J=7.3\text{Гц}$), 1.02-1.40 (m, 8H), 1.68 (t, 4H, $J=16.1\text{Гц}$), 2.38 (s, 2H), 3.13 (s, 2H).

ПРИКЛАД 61: (1-амінометил-4-пропіл-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



Етап i: синтез 2-ціано-(4-пропіл-циклогексиліден)-оцтової кислоти етилового ефіру (61a):

4-н-пропілциклогексанон (14.0г, 99.8мМоль) розчиняли в толуолі (145мл) і обробляли ацетатом амонію (0.77г, 9.98мМоль). крижаною оцтовою кислотою (1.1мл) і етилціанацетатом (11.3г, 99.8мМоль). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі з пасткою Діна-Старка, потім охолоджували до кімнатної температури і промивали H_2O ($2 \times 200\text{мл}$). Водний шар додатково промивали толуолом ($3 \times 200\text{мл}$). Органічні шари поєднували, сушили над Na_2O_4 і концентрували під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 8:1 гексан/етилацетат з одержанням 21.58г (92%) необхідного продукту у вигляді прозорої жовтого масла (61a).

Мас-спектрометрія: 236.1 ($M+1$ для $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_2$); масло; ТШХ: Si_2 , $R_f 0.57$ (8:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз ($\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_2$) (розрахунок) C: 71.46 H: 8.99, N: 5.95; (результат аналізу) C: 71.38, H: 8.92, N: 6.10. ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2929, 2225, 1728, 1603, 1227. ^1H ЯМР (CDCl_3) δ : 0.83 (t, 3H, $J=7.3\text{Гц}$), 1.07-1.30 (m, 9H), 1.51-1.56 (m, 1H), 1.91-2.00 (m, 2H), 2.04-2.12 (m, 1H), 2.23-2.30 (m, 1H), 2.95-3.01 (m, 1H), 3.77-3.83 (m, 1H), 4.20 (q, 2H, $J=7.1\text{Гц}$).

Етап ii: синтез цис-і-ціанометил-4-пропіл-циклогексанкарбонітрилу (61b):

2-Ціано-(4-н-пропіл-циклогексиліден)-оцтової

кислоти етиловий ефір (61a, 19.46г, 82.70мМоль) розчиняли в EtOH (100мл) і додавали до суспензії NaCN (4.053г, 82.70мМоль) у EtOH/H₂O (340мл/20мл). Реакційну суміш кип'ятили під зворотним холодильником протягом ночі, потім охолоджували до кімнатної температури і фільтрували для видалення солі, що випала в осад. Фільтрат концентрували під вакуумом з одержанням прозорого дуже в'язкого масла жовтого кольору. Масло перерозчиняли в EtOAc і промивали сольовим розчином (2×150мл), сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Залишок піддавали флеш-хроматографії на силікагелі, елюючи 19:1 гексан/EtOAc з одержанням 4.69г 61b (74%).

Мас-спектрометрія: іон M+1 не спостерігався (C₁₂H₁₈N₂); масло; ТШХ: Si₂, R_f0.38 (3:1 гексан/EtOAc); Мікроаналіз (C₁₂H₁₈N₂) (розрахунок) C: 75.74 H: 9.53, N: 14.72; результат аналізу) C: 76.05, H: 9.58, N: 14.90. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2931, 2239, 1453, 758. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ: 0.86 (t, 3H, J=7.1Гц), 1.18-1.34 (m, 7H), 1.42-1.61 (m, 2H), 1.81-1.83 (m, 2H), 2.06-2.09 (m, 2H), 2.65 (s, 2H).

Етап iii: синтез цис-(1-ціано-4-пропіл-циклогексил)-оцтової кислоти етилового ефіру (61c):

цис-1-Ціанометил-4-н-пропіл-циклогексанкарбонітрил (61b, 3.87г, 20.34мМоль) розчиняли в EtOH (50мл) і толуолі (50мл), охолоджували до 0°C і насичували газоподібною HCl протягом 20 хвилин. Розчин щільно закривали і залишали перемішуватися на ніч при кімнатній температурі. Потім його концентрували під вакуумом з одержанням жовтувато-білої твердої речовини. Залишок розтирали з етиловим ефіром (200мл) і сушили під вакуумом, потім розчиняли в H₂O (80мл) і додавали 1N HCl (4мл). Реакційна суміш ставала прозорою через 4 години перемішування, після чого її продовжували перемішувати протягом ночі при кімнатній температурі. Через 18 годин у розчині спостерігали утворення крапель жовтого масла. Сполуку екстрагували EtOAc (4×200мл); органічні шари поєднували, промивали сольовим розчином (2×200мл), сушили над Na₂SO₄ і концентрували. Залишок піддавали флеш-хроматографії з 19:1 гексан/EtOAc з одержанням 3.27г продукту (61 з, 68%).

Мас-спектрометрія: 238.1 (M+1 для C₁₃H₂₁NO₂); масло; ТШХ: Si₂, R_f0.38 (CH₂Cl₂); Мікроаналіз (C₁₃H₂₁NO₂) (розрахунок) C: 70.85 H: 9.77, N: 5.90; результат аналізу) C: 70.65, H: 9.72, N: 5.84. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2929, 2236, 1736, 1185. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ: 0.85 (t, 3H, J=7.1Гц), 1.19-1.55 (m, 10H), 1.71-1.74 (m, 2H), 2.08-2.10 (m, 2H), 2.59 (s, 2H), 4.16 (q, 2H, J=7.1Гц).

Етап iv: синтез цис-8-пропіл-2-азоспіро[4,5]декан-3-ону (61d):

цис-(1-Ціано-4-пропіл-циклогексил)-оцтової кислоти етиловий ефір (61з, 8.27г, 34.8мМоль) розчиняли в MeOH (90мл) і обробляли триетиламіном і 10% Ph/2%Pd/C (0.5г), після чого струшували в атмосфері H₂ (50psi) 55 години. Потім реакційну суміш фільтрували, концентрували під вакуумом. Залишок хроматографували на силікагелі, елюючи 5:1 гексан/EtOAc з одержанням 6.41г (61d, 94%) необхідного продукту.

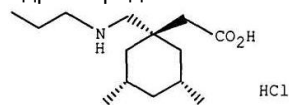
Мас-спектрометрія: 196.1 (M+1 для C₁₂H₂₁NO);

масло; ТШХ: Si₂, R_a0.38 (гексан/EtOAc); Мікроаналіз (C₁₂H₂₁NO) (розрахунок) C: 73.80 H: 10.84, N: 7.17; (результат аналізу) C: 73.86, H: 10.76, N: 7.11. ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 3192, 2924, 1704, 1678. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ: 0.83-1.17 (m, 5H), 1.18-1.39 (m, 7H), 1.61-1.65 (m, 2H), 1.71-1.74 (m, 2H), 2.11 (s, 2H), 3.16 (s, 2H), 5.85 (br, 1H).

Етап v: синтез сполуки прикладу 61: (1-амінометил-4-пропіл-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлориду: 8-пропіл-2-азоспіро[4,5]декан-3-он (61d, 5.8г, 29.75мМоль) обробляли концентрованою HCl (150мл) і гріли при 115°C протягом ночі. Реакційній суміші дозволяли охолонути до кімнатної температури, спостерігаючи випадання осаду. Осад відфільтровували з одержанням 3.47г білої твердої речовини, а фільтрат охолоджували і переріфльтровували з одержанням у сумі 6.24г (99%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 214.1 (M+1 для C₁₂H₂₃NO₂); T_{пл} 142-144°C; Мікроаналіз (C₁₂H₂₃NO₂·HCl·0.86H₂O) (розрахунок) C: 58.91 H: 9.83, N: 5.72; (результат аналізу) C: 59.27, H: 9.60, N: 5.71. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 0.86-0.90 (m, 3H), 0.97-1.41 (m, 10H), 1.61-1.75 (m, 4H), 2.37 (s, 2H), 3.13 (s, 2H), ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2919, 1702, 1525, 1461, 1188.

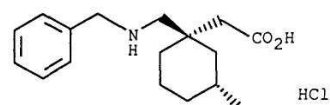
ПРИКЛАД 62: ((3R,5S)-3,5-диметил-1-пропіламінометил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид



((3R,5S)-1-амінометил-3,5-диметил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (59a, 0.5г, 2.12мМоль) розчиняли в етанолі (45мл) і обробляли 1N NaOH (1.8мл). Потім додавали пропіоновий альдегід (0.5мл, Зекв.) і обробляли реакцію Pt₂ (0.2г). Потім суміш струшували в атмосфері H₂ (50psi) 3 години. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (5мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл) і фільтрували. Фільтрат концентрували і перекристалізовували з гарячого ізопропанолу (4мл), Et₂O (225мл) і гексану (150мл) з одержанням 200мг (0.83мМоль, 39%) продукту.

Мас-спектрометрія: 242.1 (M+1 для C₁₄H₂₇NO₂); ІЧ-спектроскопія (KBr, см⁻¹): 2952 (br), 1686, 1457, 1218. Мікроаналіз (C₁₄H₂₇NO₂·HCl·0.24H₂O) (розрахунок) C: 59.60 H: 10.17, N: 4.96; (результат аналізу) C: 59.68, H: 10.09, N: 4.64. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ: 0.48-0.57 (m, 1H), 0.78-1.05 (m, 11H), 1.61-1.78 (m, 7H), 2.60 (s, 2H), 2.93-3.00 (m, 4H).

ПРИКЛАД 63: [(1R,3R)-1-(бензиламіно-метил)-3-метил-циклогексил]-оцтової кислоти гідрохлорид

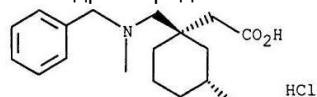


((1R,3R)-1-Амінометил-3-метил-циклогексил)-оцтової кислоти гідрохлорид (Приклад 1, 3.0г, 13.5мМоль) розчиняли в етанолі (80мл) і обробляли 1N NaOH (14мл, 1+екв.). Потім додавали бензальдегід (4.5мл) і 10% Pd/C (1.0г) і суміш струшували в атмосфері H₂ (50psi) 2.75 години. Реакційну

суміш фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (20мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл), фільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в мінімально необхідній кількості гарячого ізопропанолу і перекристалізовували з ефіру. Тверду фазу відфільтровували, а фільтрат охолоджували протягом ночі для одержання другої порції кристалів. Тверду фазу поєднували з одержанням 1.35г (36%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 276.1 (M+1 для $C_{17}H_{25}NO_2$); Мас-спектрометрія високого розділення: (розрахунок) 276.1963 (результат аналізу) 276.1962 (M+1 для $C_{17}H_{25}NO_2$); $T_{пл}$ 157-158°C; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2932 (br), 1691, 1450, 1201. Мікроаналіз ($C_{17}H_{25}NO_2 \cdot HCl \cdot 0.24H_2O$) (розрахунок) C: 64.58 H: 8.44, N: 4.43; (результат аналізу) C: 64.57, H: 8.44, N: 4.28. 1H ЯМР (CD_3OD) δ 0.77-1.69 (m, 12H), 2.42 (s, 2H), 3.21 (s, 2H), 4.25 (s, 2H), 7.43-7.52 (m, 5H).

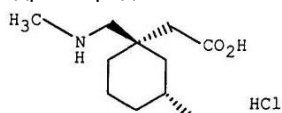
ПРИКЛАД 64: $\{(1R,3R)-1-[(бензил-метил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил\}-оцтової$ кислоти гідрохлорид



$\{(1R,3R)-1-(бензиламіно-метил)-3-метил-циклогексил\}-оцтової$ кислоти гідрохлорид (Приклад 63, 1.02г, 3.27моль) розчиняли в етанолі (40мл) і обробляли 1N NaOH (3.3мл, 1+екв.). Потім додавали формальдегід (2.5мл) і Pt_2 (0.1г) і суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) 8 годин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (10мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл), фільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в мінімально необхідній кількості гарячого ізопропанолу і перекристалізовували з ефіру і гексану. Тверду фазу збирали з одержанням 0.704г (2.16моль, 66%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 290.1 ($C_{18}H_{27}NO_2$); Мас-спектрометрія високого розділення: 290.2128 ($C_{18}H_{27}NO_2$); $T_{пл}$ 204-205°C; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2926 (br), 1720, 1457, 1387, 1203. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.82-0.98 (m, 5H), 1.24-1.91 (m, 7H), 2.38-2.58 (m, 2H), 2.91 (d, 3H, $J=11.2$ Гц), 3.43-3.54 (m, 2H), 4.33-4.49 (m, 2H), 7.50-7.56 (m, 5H).

ПРИКЛАД 65: $\{(1R,3R)-3-метил-1-метиламінометил-циклогексил\}-оцтової$ кислоти гідрохлорид



$\{(1R,3R)-1-[(бензил-метил-аміно)-метил]-3-метил-циклогексил\}-оцтової$ кислоти гідрохлорид (Приклад 64, 0.60г, 1.84моль) розчиняли в етанолі (50мл). Додавали 10% Pd/C (0.1г) і суміш струшували в атмосфері H_2 (50psi) 7 хвилин. Реакційну суміш фільтрували, додавали 1N HCl в ефірі (5мл) і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в гарячому ізопропанолі (100мл), фільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок розчиняли в мінімально необхідній кількості гарячого ізопропанолу і перекристалізовували з ефіру і

гексану. Кристали являли собою 0.15г (35%) необхідного продукту.

Мас-спектрометрія: 200.1 (M+1 для $C_{11}H_{21}NO_2$); Мас-спектрометрія високого розділення: (розрахунок) 200.1650 (результат аналізу) 200.1646 (M+1 для $C_{11}H_{21}NO_2$); $T_{пл}$ 160-161°C; ІЧ-спектроскопія (KBr, cm^{-1}): 2925 (br), 1719, 1457. Мікроаналіз ($C_{11}H_{21}NO_2 \cdot HCl \cdot 0.40H_2O$) (розрахунок) C: 54.38 H: 9.46, N: 5.77; (результат аналізу) C: 54.27, H: 9.36, N: 5.65. 1H ЯМР (CD_3OD) δ : 0.83-0.97 (m, 5H), 1.20-1.28 (m, 1H), 1.42-1.74 (m, 6H), 2.38 (s, 2H), 2.73 (s, 3H), 3.23 (s, 2H).

ПРИКЛАД 66: Резюме

Використовуючи *ex vivo* модель свіжовисіченої сітківки пацюка, досліджували механізми підтримки рівня глутамату в тканинах мозку в нормальних межах. Анаплеротичний синтез глутамату може бути важливим процесом для заповнення глутамату, що окислюється в глії внаслідок нейротрансмісії. Як точки контролю рівня в цих нових метаболічних шляхах були ідентифіковані карбоксилування пірувату і трансамінування амінокислот з розгалуженим ланцюгом. Для перевірки взаємодій між синтезом глутамату і карбоксилазною активністю, досліджували синтез ^{14}C -глутамату + ^{14}C -глутаміну з $H^{14}CO_3$ як функцію вмісту пірувату в середовищі. Збільшення концентрації пірувату від 0.2 до 5мМ збільшує синтез ^{14}C -амінокислот на 66 +/-15%. Питома радіоактивність глутаміну відносно $H^{14}CO_3$ через 20 хвилин інкубації показала, що ~30% глутаміну в сітківці виробляється з бікарбонату. Для перевірки залежності синтезу глутамату від наявності амінокислот з розгалуженим ланцюгом (BCAA) як джерела азоту досліджували ефект інгібування нейронних амінотрансфераз, залежних від амінокислот з розгалуженим ланцюгом (BCATc). Габапентин (ГБП) (1мМ), селективний інгібітор BCATcy нейронах, інгібував синтез ^{14}C -глутамату+ ^{14}C -глутаміну з $H^{14}CO_3$ на 31% без затримки включення $H^{14}CO_3$ у лактат і інтермедиати циклу лимонної кислоти. Інгібування синтезу глутамату *de novo* може бути обернено доданим 0.6мМ BCAA. Існуючі дані показують, що піруваткарбоксилаза й амінотрансфераза, залежна від амінокислот з розгалуженим ланцюгом, обидві здійснюють контроль за синтезом глутамату *de novo* у сітківці і що синтез глутамату *de novo* важливий у кількісному відношенні для підтримки рівня глутамату в сітківці.

Методики

Експериментальні тварини

Для експериментів були використані пацюки Sprague Dawley (200-400г). Пацюків утримували при 12-годинному світловому циклі, годували і напували *ad libidum*. Після анестезії пацюків нембуталом (внутрішньочеревинно) очі витягали і висікали сітківку в охолоджений на льоді буфер.

Включення CO_2

Свіжо-одержані препарати стат-ретини преінкубували при 37°C 3 хвилини в буфері А (pH7.4), що містить 118мМ NaCl, 4.7мМ KCl, 2.5мМ $CaCl_2$, 1.2мМ KH_2PO_4 , 1.17мМ $MgSO_4$, 20мМ HEPES, 5мМ глюкози, 0.05мМ NH_4Cl і 25мМ $Na^{14}CO_3$. Піруват (або 0.2, або 5мМ) також був включений у буфер. 1мл буферу, також як і газову фазу в 20мл флаконі врівноважували 95% O_2 , 5% C_2 . Інкубацію ініцію-

вали додаванням $10\mu\text{Ci}/\text{мл}$ H^{14}CO_3 . Судини негайно закривали від атмосфери. Найбільша тривалість інкубації складала 20 хвилин, хоча в деяких попередніх дослідженнях час інкубації варіював від 10 до 60 хвилин. Реакцію зупиняли видаленням напів-ретини з буферу і поміщенням її в 2% перхлорну кислоту. Буфер окремо підкисляли перхлорною кислотою (кінцева концентрація 2%) і $^{14}\text{CO}_2$, що не прореагував, дозволяли дифундувати з підкисленого зразка.

Загальна кількість продукту (нелетучі ^{14}C - метаболіти) визначали виміром радіоактивності в аліквотах зразків середовища і тканини. Метаболіти в екстрактах виділяли за допомогою хроматографії на ацетатному Dowex-1, [як описано в: Williamson, J. R., and Corcey, B. (1969) "Methods in Enzymology", vol.13, ed. Lowenstein, J. M. (Academic Press) pp.434-513], і проводили кількісне визначення на сцинтиляційному лічильнику. У більшості

випадків дані по індивідуальним ^{14}C -метаболітам показані як сума радіоактивності в середовищі і тканинних екстрактах. Повна кількісна характеристика ^{14}C -метаболітів як у сітківці, так і в середовищі демонструється в Таблицях I і II.

У розділі результатів і обговорень не демонструються дані, зібрані в ході проведення оцінки впливу пірувату на включення H^{14}CO_3 у сітківці. Фіг.2 показує тільки дію пірувату на суму глутамат+глутамін і суму піруват+лактат. У Таблиці I демонструються значення для всіх метаболітів, що включили мітку з H^{14}CO_3 і їх розподіл.

Подібним чином, додаткові дані, що не показані в розділі результатів і обговорень, стосуються оцінки впливу габапентину. Таблиця II є більш докладними даними, показаними на Фіг.4, і включає значення для всіх метаболітів, мічених H^{14}CO_3 і їх розподіл.

Таблиця I

Умови	Локалізація	Глутамін	Глутамат	Аспартат	Лактат	Цикл ТКК	Всього
Контроль (0.2 Піруват)	в	0.59±0.05	1.47±0.29	0.85±0.06	0.16±0.06	1.02±0.26	4.08±0.41
	поза	0.61±0.08	0.04±0.01	0.08±0.01	0.55±0.03	0	1.19±0.13
	сума	1.20±0.09	1.51±0.29	0.93±0.08	0.71±0.06	1.02±0.26	5.27±0.45
+5.0 Піруват	в	0.91±0.13	2.67±0.29	1.08±0.12	0.29±0.04	2.31±0.13	7.26±0.61
	поза	0.96±0.14	0.06±0.01	0.08±0.01	1.18±0.11	0	2.24±0.21
	сума	1.87±0.23	2.73±0.28	1.16±0.12	1.47±0.13	2.31±0.13	9.50±0.74

Таблиця II

Умови	Локалізація	Глутамін	Глутамат	Аспартат	Лактат	Цикл ТКК	Всього
Контроль	в	0.440±0.032	1.477±0.097	0.634±0.038	0.080±0.008	1.096±0.105	3.715±0.266
	поза	0.551±0.036	0.008±0.001	0.070±0.003	0.478±0.030	0	1.117±0.075
	сума	0.991±0.054	1.485±0.096	0.704±0.040	0.558±0.031	1.096±0.105	4.832±0.303
+ГБП	в	0.389±0.026	1.324±0.025	0.549±0.019	0.089±0.006	1.514±0.103	3.902±0.122
	поза	0.545±0.024	0.008±0.002	0.035±0.003	0.516±0.030	0	1.066±0.028
	сума	0.934±0.036	1.332±0.025	0.584±0.022	0.605±0.028	1.514±0.103	4.968±0.028
+ГБП+ВСАА	в	0.480±0.011	1.549±0.070	0.609±0.021	0.086±0.008	1.220±0.116	3.989±0.043
	поза	0.806±0.086	0.009±0.001	0.093±0.008	0.458±0.048	0	1.322±0.076
	сума	1.286±0.082	1.558±0.070	0.702±0.016	0.544±0.040	1.220±0.116	5.311±0.119

Хроматографічна методика, використовувана в цьому прикладі, розділяє глутамін, глутамат, аспартат і лактат. Інтермедіати циклу лимонної кислоти залишаються на колонці Dowex і оцінюються як різниця між загальним числом імпульсів у зразку і числом імпульсів в матеріалі, що елюється. Доказу застосовності такої методики були приведені раніше. Перед тим як піддати зразок хроматографічному поділу, ^{14}C -піруват у зразку стехіометрично перетворюється в лактат шляхом обробки зразка надлишком NADH і лактатдегідрогенази. Тому єдиний на хроматограмі пік лактату містить весь ^{14}C , що спочатку належав як лактату, так і пірувату. Щоб визначити питому активність глутаміну і глутамату в зразках сітківки, масову кількість глутамату вимірювали флюориметрично, використовуючи стандартну ферментативну методику: Patel, M. S. (1989) in Neuromethods: Carbohydrate and Energy Metabolism, vol II, eds. Boulton, A.A. and Baker G. D. (The Humana Press, Inc.) pp309-340. Масову кількість глутаміну визначали після хроматографічного відділення від глутамату з подальшим, описаним раніше люміноме-

тричним визначенням. АТФ і креатинфосфат вимірювали флюориметрично, використовуючи ферментативну методику.

Ретинальний білок визначали, використовуючи методику визначення білка DC (Bio-Rad, Richmond, CA, USA). Кожна стат-ретина містила приблизно 0.4мг білка.

Піруваткарбоксилазна методика

Активність піруваткарбоксилази визначали на свіжих зразках цільного мозку і висіченої сітківки. Спосіб, [описаний Patel, M. S. (1989) in Neuromethods: Carbohydrate and Energy Metabolism, vol II, eds. Boulton, A.A. and Baker G. D. (The Humana Press, Inc.) pp 309-340], використовували для виміру включення $^{14}\text{CO}_2$ в оптимальних умовах у тканинах, що піддавалися ультразвуковій дезинтеграції.

Білковий блотинг (Western Blot)

Електрофорез у SDS-ПААГ був виконаний [як описано в Patel, M. S. (1989) in Neuromethods: Carbohydrate and Energy Metabolism, vol II, eds. Boulton, A.A. and Baker G. D. (The Humana Press, Inc.) pp 309-340], використовуючи 10% гелі. Для

імуноблотингу білки переносили на мембрани Immobilon P. Мембрани блокували 5% БСА і інкубували з імуноафінно очищеними антитілами кролик-анти-пацюк до пептидів BCATc (розведення 1:1000). Імунореактивні білкові смуги візуалізували за допомогою системи ECL згідно з інструкцією виробника (Amersham, Arlington Heights, IL, USA).

Розрахунки і статистика

Дані викладені в тексті і на малюнках представлені як значення dpm/mg у конкретному метаболіті, що поділяється на питому активність HCO_3^- у середовищі. Тому всі дані демонструються як $\text{nMоль H}^{14}\text{CO}_3/\text{mg}$ білки для будь-якого даного метаболіту.

Результати представлені як середня \pm стандартна похибка середнього. Статистична значимість оцінювалася спареним t -тестом і значенням $p < 0.05$. число незалежних визначень (n) зазначено в підписах до малюнків і таблиць.

Рівень піруваткарбоксилази подібний у сітківці і цільному мозку.

Patel показав, що піруваткарбоксилаза є основним ферментом, що утилізує CO_2 у мозку дорослих гризунів. Щоб визначити, чи вірно це і для сітківки, активність піруваткарбоксилази при 37°C у дезинтегрованих ультразвуком тканинах неокортексу порівнювали з її активністю в сітківці. Рівень в неокортексі ($2.9 \pm 0.1 \text{ nMоль H}^{14}\text{CO}_3 \text{ зв'яз./хв./mg}$) був подібний з рівнем, виявленим у дезинтегрованих ультразвуком тканинах сітківки ($3.4 \pm 0.4 \text{ nMоль H}^{14}\text{CO}_3 \text{ зв'яз./хв./mg}$), що говорить про те, що піруваткарбоксилаза настільки ж активна в сітківці, наскільки й у цілому мозку.

Рівні включення $^{14}\text{CO}_2$ і появи ^{14}C -глутамату є функцією рівня пірувату в сітківці.

У попередніх експериментах сітківку інкубували з 0.2 mM пірувату як описано раніше протягом 10, 20, 40 і 60 хвилин. Відслідковували загальний вміст $^{14}\text{CO}_2$ і рівні АТФ і креатинфосфату. Рівні АТФ і креатинфосфату залишалися постійними як функція часу, демонструючи, що контроль окислювання і pH були адекватними. Загальне включення CO_2 ($5.50 \pm 0.14 \text{ nMоль/mg}$ білку) було максимальним між 20 і 40 хвилинами, але досягало 76% від максимуму ($4.2 \pm 0.1 \text{ nMоль/mg}$) уже до 10 хвилин. Оскільки рівні АТФ ($20 \pm 0.2 \text{ nMоль/mg}$) і креатинфосфат ($16 \pm 1.1 \text{ nMоль/mg}$) були високими і не змінювалися згодом, цей максимум показує, що рівень включення CO_2 був постійним, але постійний розпад нелетучих ^{14}C -продуктів на CO_2 і H_2O давав близький до стійкого рівень глутамат/глутамін-зв'язаної радіоактивності на 20-ій хвилині.

Щоб з'ясувати вплив карбоксилювання пірувату на синтез глутамату, сітківку інкубували або з 0.2 , або з 5 mM пірувату в середовищі й аналізували як внутрішньоклітинні, так і позаклітинні метаболіти. Загальне включення $^{14}\text{CO}_2$ за 20 хвилин у присутності 0.2 mM пірувату складало $5.27 \pm 0.45 \text{ nMоль H}^{14}\text{CO}_3/\text{mg}$, тоді як включення в присутності 5 mM пірувату - $9.50 \pm 0.74 \text{ nMоль H}^{14}\text{CO}_3/\text{mg}$. Фіг.2 показує, що збільшення неміченого пірувату від 0.2 до 5 mM збільшує суму ^{14}C -глутамат+ ^{14}C -глутамін (від 1.74 ± 0.19 до $2.90 \pm 0.31 \text{ nMоль/mg}$, $p < 0.005$). Фіг.2 також показує,

що інкубація з великою кількістю пірувату збільшує суму ^{14}C -лактат+ ^{14}C -піруват. Таким чином, у стійкому стані збільшення концентрації пірувату від 0.2 до 5 mM збільшує включення H^{14}CO_3 у глутамат і глутамін на 66%, а в лактат і піруват на 111%. ^{14}C , що включається в піруват і лактат, включається в гліальне циркулювання через піруваткарбоксилазу, малік-фермент і фосфоенолпіруваткарбоксилазу й у першу чергу демонструє активність декарбоксилювання в циклі лимонної кислоти в інтактній нервовій тканині.

Ці дані демонструють, що збільшення піруваткарбоксилази індукує збільшення синтезу de novo ретинального глутамату. Одночасно виявляється трохи більше збільшення обороту пірувату.

Значна частина загального синтезу глутамату обумовлена карбоксилюванням пірувату.

Важливість карбоксилювання пірувату як джерела заповнення глутамату, що звільняється з нервових закінчень сітківки в ході нейронної трансмісії, була продемонстрована визначенням питомої активності глутамату в тканинах сітківки, інкубованих із середовищем, що містить H^{14}CO_3 . Відома частина синтезу глутаміну в сітківці здійснюється з неміченого глутамату, що звільняється нейронами і захоплюваного тією Мюллера. Інше приходить із гліального ss-кетоглутарату , синтезованого анаплеротично з пірувату і $^{14}\text{CO}_2$. Тому, питома радіоактивність глутаміну, щодо питомої радіоактивності H^{14}CO_3 дає мінімальну величину тієї частини глутаміну, що утворюється в ході анаплерозу. Продуктом піруваткарбоксилази в глії є $[1,4\text{-}^{14}\text{C}]$ -оксалоацетат. Обидві позиції 1 і 4 є міченими, оскільки ^{14}C , спочатку включений у позицію 4 оксалоацетату, потім рандомізується між позиціями 1 і 4 за рахунок врівноваження оксалоацетату симетричним фумаратом. Мічений оксалоацетат конденсується з піруватом з утворенням цитрату, який потім ізомеризується в ізоцитрат. $[1,4\text{-}^{14}\text{C}]$ -ізоцитрат окислюється і декарбоксилюється в $[5\text{-}^{14}\text{C}]\text{-}\alpha\text{-кетоглутарат}$ за допомогою ізоцитратдегідрогенази. Тому, $\alpha\text{-кетоглутарат}$, синтезований анаплеротично, має приблизно половину питомої радіоактивності від первісного субстрату H^{14}CO_3 , в залежності від ступеню рандомізації мітки в оксалоацетаті. Це також вірно для глутаміну, синтезованого з $[5\text{-}^{14}\text{C}]\text{-}\alpha\text{-кетоглутарату}$.

Питому активність глутаміну вимірювали в екстрактах ретинальної тканини, інкубованих з 0.2 mM пірувату і H^{14}CO_3 протягом 10, 20, 40 і 60 хвилин. Дані зібрані тільки для тихорецького (не із середовища) глутамату. Питома радіоактивність глутамату в тканині була постійною між 10-ою і 60-ою хвилинами. Через 20 хвилин інкубації масова кількість глутаміну в тканині була $4.50 \pm 0.44 \text{ nMоль/mg}$, а питома радіоактивність $1970 \pm 115 \text{ dpm/nMоль}$ або $0.158 \pm 0.009 \text{ dpm/nMоль}$ питомої активності бікарбонату. Це говорить про те, що приблизно 32% глутаміну продукується анаплеротично і піруваткарбоксилазою.

Питома радіоактивність ретинального глутамату ($269 \pm 8 \text{ dpm/mMоль}$) була нижче, ніж у глутаміну і також була постійною в період від 10-ї до 60-ї хвилини. Вона складала лише 14% від питомої активності глутаміну. Це говорить про те, що метаболізм глутамату в нейронах більш швидкий, ніж

при анаплеротичному синтезі. Однак, оскільки оборот глутамату в нейронах не може заповнити вуглецевий кістяк глутамату, загублений в ході нейротрансмісії, анаплеротичний шлях має особливу важливість у підтримці рівня глутамату в нейронах. Представлені дані недвозначно демонструють, що анаплеротичний шлях забезпечує значну частину (~32%) глутаміну, необхідного для заповнення глутамату.

Синтез ретинального глутамату і глутаміну частково залежить від трансамінування амінокислот з розгалуженим ланцюгом.

Недавні дослідження синтезу глутамату в культурах астроцитів дозволяють припустити, що стадія перетворення α -кетоглутарату у глутамат може служити як стадія контролю в анаплеротичному синтезі глутамату. Кілька груп показали, що α -аміногрупа глутамату не може походити від аміаку і повинна бути тому доставлена шляхом трансамінування α -кетоглутарату з іншою амінокислотою: Kanamori, K., Ross, B.D., and Kondrat, R. W. (1998) *J. Neurochem.* 70, 1304-1315, Laemmli, U. K. (1970) *Nature* 227, 680-685, включаючи нашу власну Haberg, A., Qu, H., Bakken, I.J., Sande, L. M., White, L. R., Haraldseth, O., Unsgard, G., Assley, J., Sonnewald, U. (1998) *Dev. Neurosci.* 20, 389-398. Амінокислоти з розгалуженим ланцюгом ймовірно є джерелом азоту, оскільки вони можуть ефективно перетинати гемато-енцефалічні і гемато-ретинальний бар'єри. Hutson із співроб. припустив, що азотний човник між нейронами і глією, що включає амінокислоти з розгалуженим ланцюгом і два ізоферменти BCAT: один з цитозолу нейронів (BCATc), а інший з гліальних мітохондрій (BCATm), може також забезпечувати азотом: Hutson, S. M., Berkich, D., Down, P., Xu, B., Ascvner, M., and LaNoe, K. F. (1998) *J. Neurochem.* 71 863-874. Відповідно до цього гіпотетичного човника, нейронні BCATc допомагають гліальній конверсії α -кетоглутарату в глутамат за участю BCATm, забезпечуючи BCAA, що регенеруються в нейронах (див. Фіг.1).

Як перший крок до вивчення ролі ізоферментів BCAT у синтезі глутамату *de novo* у сітківці, був використаний імуноблотинг із BCATc і BCATm - специфічними антитілами, щоб з'ясувати чи експресуються ізоферменти BCAT у сітківці пацюка. Як показано на Фіг.3, і BCATc і BCATm експресуються в сітківці на рівні, порівнянному з рівнем, виявленим у гомогенатах цільного мозку. Тому, свіжо-висічена сітківка пацюка являє собою цілком придатну інтактну нейросистему для вивчення концепції азотного човника між нейронами і глією.

Аналог лейцину габапентин (ГБП) є нейроактивним препаратом, що інгібує BCATc, але не BCATm: Su, T.-Z., Lunney, E., Campbell, G., Oxender, D. L. (1995) *J. Neurochem.* 64, 2125-2131. Було підтверджено, що ГБП інгібує синтез лейцину у свіжо-висічених сітківках пацюків (дані не показані). Ефект ГБП на синтез ^{14}C -глутамат+ ^{14}C -глутаміну з H^{14}CO_3 у сітківці пацюка *ex vivo* був обмірюваний. Як показано на Фіг.4, 1мМ ГБП придушує утворення ^{14}C -глутамат+ ^{14}C -глутаміну на 71% від контрольної величини (2.26 ± 0.05 проти 3.18 ± 0.12 нМоль/мг, $p < 0.001$). Додавання по 200 μM лейцину, ізолейцину і валіну перетворює інгібу-

вання на 89% від контролю (2.84 ± 1.15 нМоль/мг, $p < 0.01$ проти тільки ГБП). Дія ГБП на АТФ або креатинфосфат не була виявлена, що говорить про те, що ГБП не придушує біоенергетичні процеси в сітківці. Невелике збільшення включення ^{14}C в лактат і інтермедіати циклу лимонної кислоти (від 1.93 ± 0.06 до 2.12 ± 0.13) обумовлене наявністю 1мМ ГБП, не є значним. Включення мітки в усі метаболіти показано в Таблиці II.

Подальші експерименти були проведені для дослідження властивостей ГБП доза/відповідь. Свіжо-висічену сітківку інкубували 20 хвилин у буфері А, що містить 0, 0.2, 1 або 5мМ ГБП. Як показано на Фіг.5, збільшення концентрації ГБП більше 1мМ не приводить до помітного збільшення інгібування синтезу ^{14}C -глутамат+ ^{14}C -глутаміну з H^{14}CO_3 . Також ГБП не впливає на утворення інтермедіатів циклу лимонної кислоти, лактату і пірувату (Фіг.5). Це підтверджує припущення, що ділякою, що ГБП інгібує у синтезі глутаміну, є опосередкована BCAT конверсія α -кетоглутарату в глутамат.

Описувані дослідження стосуються механізмів підтримки рівня глутамату в ЦНС. Колишні дослідження показали, що глутаматсинтетазу необхідно в сітківці і гіпокампальних зрізах для підтримки рівня нейронного глутамату: Su, T.-Z., Lunney, E., Campbell, G., Oxender, D. L. (1995) *J. Neurochem.* 64, 2125-2131.

Імуноцитохімічні виміри показали, що 90% або більше ретинального глутамату і глутамату цільного мозку є нейронним, і що інгібування глутамінсинтетази протягом 90 хвилин виснажує нейронний запас глутамату до незначного рівня: Ottersen, O.P., Zhang, N., and Walberg, F. (1992) *Neurosci.* 46, 519-534. Це показує, що глутамінсинтетаза необхідна для підтримки рівня нейронного глутаміну. Хоча глутамат може бути синтезований у нейронах з α -кетоглутарату, видалення піруваткарбоксілази або іншого анаплеротичного ферменту перешкоджає заповненню α -кетоглутарату, і, таким чином, запобігає синтезу глутамату всередині нейронів, за винятком шляху через глутаміназу.

У цьому прикладі джерела і контроль синтезу глутаміну досліджували за допомогою інкубації висіченої сітківки з H^{14}CO_3 і виміром появи і питомої радіоактивності ^{14}C -глутаміну і ^{14}C -глутамату. Більше ^{14}C -глутаміну синтезується в присутності 5мМ пірувату, ніж у присутності 0.2мМ пірувату. Це показує, що піруваткарбоксілазна активність впливає на об'єм синтезу глутаміну. Однак, недостатня чутливість цього типу контролю демонструється спостереженням, що коли піруват збільшують від 0.2 до 5мМ, величина зростання піруваткарбоксілази (80.3%) не викликає еквівалентного збільшення ^{14}C -глутаміну+ ^{14}C -глутамату (69.0%). Гнучкість цього контролю забезпечується потенціалом декарбоксілювання циклу лимонної кислоти й обміну пірувату. Залежність від пірувату загального включення H^{14}CO_3 у тканинах сітківки подібна тій, що спостерігалася в астроцитах: Gamberino, W. C., Berkich, D. A., Linch, C. J., Xu, B., and LaNoe, K. F. (1997) *J. Neurochem.* 69, 2312-2325. Однак, в астроцитах, що не мають шляхів для регенерації ендогенних BCAA, використовуваних для трансамінування α -кетоглутарату, піруват-

індуковане збільшення утилізації CO₂ не приводить до збільшення рівня ¹⁴C-глутаміну і ¹⁴C-глутамату. Замість цього, ¹⁴C накопичується в інтермедіатах циклу лимонної кислоти й у "рециркулюючому" піруваті.

У ретинальних дослідженнях, описаних тут, питома радіоактивність глутаміну в стійкому стані складала 0.158 від питомої активності бікарбонату. Оскільки приблизно половина ¹⁴C, включеного в оксалоацетат, виявлялося в сс-кетоглутараті, результати показують, що ~32% глутаміну виробляється з H¹⁴CO₃. Це перший прямий доказ внеску анаплерозу в синтез глутамату в нервовій тканині. Попередні докази були непрямими і включали ізотопомірний аналіз ЯМР-спектрів після ін фузії ¹³C-глюкози (3-5, 11-13) у інтактний мозок. Оцінка внеску карбоксилювання пірувату в синтез глутамату використовуючи такі ЯМР-методи, давала більш низькі величини в діапазоні від менш ніж 1% (3) до 5-10% (4,5) і до 20-25%: Shank, R. P., Bennet, G.S., Freytag, S.O., and Campbell, G.L (1985) Brain Res. 329, 364-367, Griffen, J. L, Rae, C, Radda, G. K., and Matthews, P.M. (1999) Biochim. Biophys. Acta 1450, 297-307, у залежності, очевидно, від первісних допущень у використовуваний математичній моделі. Приведені результати дозволяють припустити, що гліальне карбоксилювання пірувату і конверсія інтермедіатів циклу лимонної кислоти в глутамат і глутамін, очевидно важливі в кількісному відношенні для ретинальної функції і можливо в цілому для функції мозку.

Спостереження, що ГБП сповільнює конверсію інтермедіатів циклу лимонної кислоти в глутамін і глутамат явно наводить на думку, що нейронний синтез ВСАА за допомогою ВСАТс необхідний для оптимального рівня амінування α-кетоглутарату в глутамат. Відповідна схема залучення в цей процес показана на Фіг.1.

Результати, що показують інгібування синтезу ¹⁴C-глутамат+¹⁴C-глутаміну з H¹⁴CO₃ габапентином і звертання інгібування ВСАА, цілком відповідають описаному раніше човнику. Ця гіпотеза також дає можливість пояснення анти-епілептичної дії ГБП: Taylor, C. P., Gee, N. S., Su, T.Z., Kocsis, J. D., Welty, D. F., Brown, J. P., Dooley, D. J., Boden, Singh, L. (1998) Epilepsy Res. 29, 233-249. Дійсно, придушення синтезу глутамату є загальною дією ГБП і анти-епілептичних карбоангідразних інгібіторів: Hazen, S. A., Waheed, A., Sly, W. S., LaNoue, K. F., Lynch, C J. (1997) Dev. NeurosciAB, 162-171. Крім того, хвороба кленового сиропу -спадкоємне захворювання, викликане мутацією гена дегідрогенази кетокислот з розгалуженим ланцюгом, якщо її не лікувати, викликає великий вміст ВСАА у сироватці у пацієнтів і подальші нейрологічні ускладнення: Chuang, D. I. And Shih, V. E. (1995) in The Metabolic Basis of Inherited Disease, eds. Schriver, C R., Beaudet, A.L., Sly, S., and Vaile, D. (McGraw-Hill) pp.1239-1277, які можуть бути пов'язані з ненормальною регуляцією синтезу глутамату. Нарешті, участь азотного човника в ході синтезу глутамату варто вивчати далі у сенсі ефективності ГБП при лікуванні нейропатичних болей: Ottersen, O.P., Zhang, N., and Walberg, F. (1992) Neurosci. 46, 519-534 і нейродегенеративних захворювань, Chuang, D. I. and Shih, V. E. (1995) in The Metabolic Basis of

Inherited Disease, eds. Schriver, C. R., Beaudet, A.L., Sly, S., and Vaile, D. (McGraw-Hill) pp.1239-1277, Rothsetin, J. D. and Kuncl, R. W., (1995) J. Neurochem. 65, 643-651.

ПРИКЛАД 67

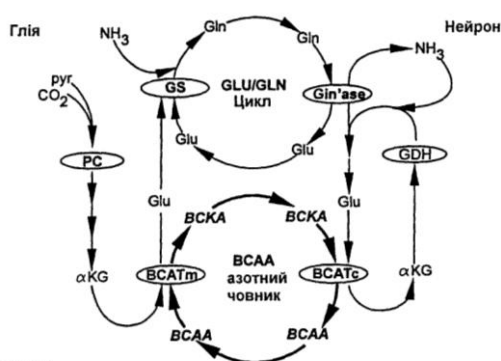
Одержання ферменту: заморожені мозки пацюків відтавали на льоді і розрізали на дрібні шматочки. До кожного мозку додавали 5мл ізотонічного буфера [225мм маніту, 75мм сахарози 5мм MOPS (pH7.1), 1мм ЕДТА, 1мм ДТТ, що містить лейпептин, пепстатин і ПМСФ]. Зразки гомогенізовували в гомогенізаторі Поттера (B. Bran Biotech International) при 500об./хв. (10 заходів) і при 800об./хв. (10 заходів). Гомогенат центрифугували в центрифугу Beckman J2-M1, ротор JA-20 при 19000об./хв. 1 годину. Супернатант діалізували проти як мінімум 3-х змін діалізного буфера (225мм маніт, 75мм сахароза, 5мм MOPS pH7.1, 1мм ЕДТА, 1мм ЕІТА і 1мм ДТТ) протягом 24 годин. Одержаний фермент зберігали на -80°C для подальшого використання.

ВСАТ-процедура: реакцію проводили в 1.5мл пробірках Еппендорф в об'ємі 100мкл, що містить 50мм Трис.НСІ (pH8.3), 25 мкл [¹⁴C]L-лейцину, 10мм 2-оксоглутарату, 15ммкМ піридоксальфосфату, 1мм ДТТ і фермент. Розчини для реакційної суміші були зроблені в 10-кратній концентрації. Через 10хв. інкубації при кімнатній температурі (22°C) реакцію зупиняли додаванням 100мкл 15мм п-нітрофенілгідразину в 2М НСІ. Через кілька хвилин додавали 1мл сцинтиляційної рідини на основі толуолу (4.5г РРО і 0.5г біс-MSB у 1л толуолу). Пробірки закривали і ретельно перемішували на міксері Vortex. Потім пробірки центрифугували при 13500об./хв. (центрифуга Eppendorf 5415C) 10 хвилин. Шістьсот мкл органічного шару з кожної пробірки поміщали в сцинтиляційні флакони і додавали по 10мл сцинтиляційної рідини для розрахунку.

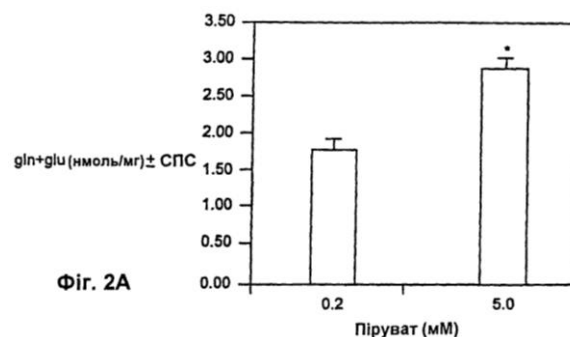
Приклад №	rBCATc IC ₅₀ (мкМ)
1	146
2	1136
3	1660
4	2515
5	2934
6	2620
7	2165
8	74
9	120
10	121
11	1387
12	1490
13	>10,000
14	8592
15	82
16	1319
17	>10,000
18	-
19	-
20	469
21	169
22	389
23	2121
24	942
25	170
26	8592
27	1553

28	181
29	392
30	2250
31	908
32	243
33	1018
34	3218
35	1768
36	-
37	1193
38	2618
39	933
40	3800
41	363
42	669
43	2079
44	2728
45	1331
46	1129

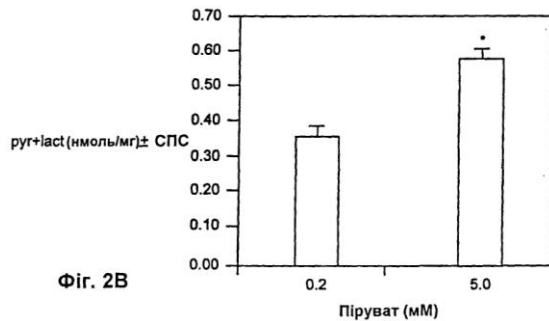
47	15580
48	8530
49	84
50	842
51	>10,000
52	2516
53	3340
54	217
55	9242
56	-
57	-
58	179
59	3370
60	11530
61	114
62	4216
63	-
+64	-
65	-



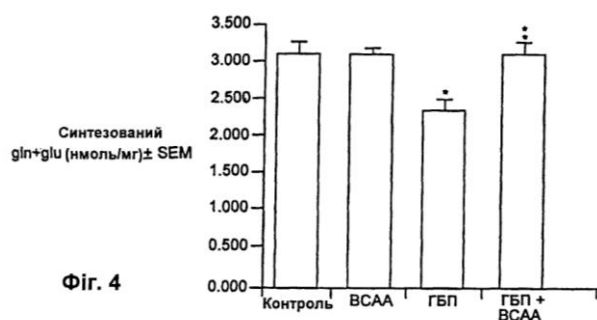
Фіг. 1



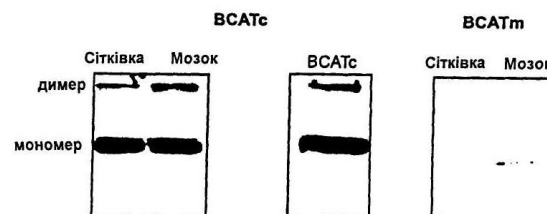
Фіг. 2A



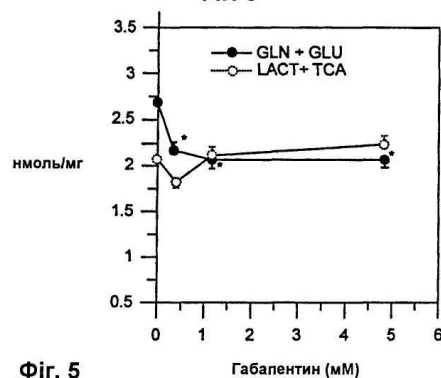
Фіг. 2B



Фіг. 4



Фіг. 3



Фіг. 5