

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037527**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.08

(21) Номер заявки
201591706

(22) Дата подачи заявки
2014.03.14

(51) Int. Cl. **C07D 453/00** (2006.01)
A61K 31/439 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

(54) СОЛЕВЫЕ ФОРМЫ (S)-ХИНУКЛИДИН-3-ИЛ-(2-(2-(4-ФТОРФЕНИЛ)ТИАЗОЛ-4-ИЛ)ПРОПАН-2-ИЛ)КАРБАМАТА

(31) 61/791,706

(32) 2013.03.15

(33) US

(43) 2016.02.29

(86) PCT/US2014/027081

(87) WO 2014/152215 2014.09.25

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖЕНЗИМ КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
Сигел Крейг, Чжао Цзин (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2012129084

BASTIN R.J. ET AL.: "Salt Selection and Optimisation for Pharmaceutical New Chemical Entities", ORGANIC PROCESS RESEARCH AND DEVELOPMENT, CAMBRIDGE, GB, vol. 4, no. 5, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 427-435, XP002228592, DOI: 10.1021/0P000018U, the whole document

CAIRA M.R.: "CRYSTALLINE POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS", TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 198, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 163-208, XP001156954, ISSN: 0340-1022, DOI: 10.1007/3-540-69178-2_5, the whole document

(57) Настоящее изобретение относится к новой кристаллической форме (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, применяемой в качестве ингибитора глюкозилцерамидной синтазы (GCS) и для лечения метаболических заболеваний, таких как лизосомные болезни накопления, как отдельно, так и в комбинации с ферментозаместительной терапией, а также для лечения рака.

B1

037527

037527 B1

Предпосылки изобретения

Настоящее изобретение относится к новой солевой форме (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата, применяемой в качестве ингибитора глюкозилцерамидной синтазы (GCS) и для лечения метаболических заболеваний, таких как лизосомные болезни накопления, как отдельно, так и в комбинации с ферментозаместительной терапией, а также для лечения рака.

Глюкозилцерамидная синтаза (GCS) представляет собой основной фермент, который активизирует первоначальный этап гликозилирования в биосинтезе гликофинголипидов (GSL) на основе глюкозилцерамида, в основном посредством ключевого перемещения глюкозы из UDP-глюкозы (UDP-Glc) к керамиду для образования глюкозилцерамида. GCS представляет собой трансмембранный интегральный белок типа III, расположенный в цис/медиальном отделе Гольджи. Гликофинголипиды (GSL), как полагают, принимают непосредственное участие во многих процессах, происходящих с клеточными мембранами, включая клеточные взаимодействия, передачу сигнала, а также распространение. Процесс синтеза структур GSL уже рассматривался (см. Yamashita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96(16), 9142-9147) в качестве важного компонента для развития эмбриона, а также для отличия некоторых тканей. Церамид является основополагающим в метаболизме сфинголипида, а снижение активности GCS, как было отмечено, влияет на сфинголипидный состав, снижая экспрессию гликофинголипидов. Сфинголипиды (SL) выполняют биомодуляторную функцию в физиологическом, а также патологическом состоянии сердечнососудистой системы. В частности, обнаружилось, что сфинголипиды, а также их регуляторные ферменты участвуют в адаптационной реакции на хроническую гипоксию в неонатальном сердце крысы (см. El Alwanit et al., Prostaglandins & Other Lipid Mediators 2005, 78(1-4), 249-263).

Ингибиторы GCS предлагаются для терапии различных заболеваний (см., например, WO 2005068426). Подобные терапии включают лечение болезней накопления гликолипидов (например, болезни Тея-Сакса, болезни Сандхоффа, недостаточности активатора GM2, GM1 ганглиозидоза и болезни Фабри), болезней, связанных с накоплением гликолипидов, (например, болезни Гоше; Миглустат (Завеска), ингибитор GCS, одобрен для лечения пациентов, больных Гоше типа 1, см. Treiber et al., Xenobiotica 2007, 37(3), 298-314), болезней, которые вызывают гипертрофию или гиперплазию почки, таких как диабетическая нефропатия; болезней, вызывающих гипергликемию или гиперинсулемию; формы рака, в которых синтез гликолипида является аномальным, инфекционных заболеваний, вызванных организмами, использующими гликолипиды поверхности клетки в качестве рецепторов, инфекционных заболеваний, в которых синтез глюкозилцерамида является неотъемлемым или важным, заболеваний, в которых происходит избыточный синтез гликолипида (например, атеросклероза, поликистоза почек и гипертрофии почки), заболеваний нервной системы, нейронального повреждения, воспалительных заболеваний или нарушений, связанных с проявлением и активацией макрофага (например, ревматоидного артрита, болезни Крона, астмы и заражения крови), а также сахарного диабета и ожирения (см. WO 2006053043).

В частности, стало известно, что сверхэкспрессия GCS связана с устойчивостью ко многим лекарственным препаратам и нарушает апоптоз, вызванный керамидом. Например, Turzanski et al., (Experimental Hematology 2005, 33 (1), 62-72 продемонстрировал действие керамида, который вызывает апоптоз в клетках острого миелолейкоза (AML) и что Р-гликопротеин (p-gp) обеспечивает устойчивость к апоптозу, вызванному керамидом, посредством модуляции керамид-глюкозилцерамидного пути, обеспечивая значительный вклад в указанную устойчивость в TF-1 клетках. Таким образом, ингибиторы GCS могут быть применимы для лечения пролиферативных нарушений посредством включения апоптоза в больные клетки.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная порошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующий пик угла 2-тета, измеренный посредством CuK_α излучения: 18,095.

В предпочтительном варианте настоящее изобретение также относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная порошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующие пики при угле 2-тета, измеренные посредством CuK_α излучения: 18,095 и 17,493.

В предпочтительном варианте настоящее изобретение также относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная порошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующие пики при угле 2-тета, измеренные посредством CuK_α излучения: 18,095 и 19,516.

В предпочтительном варианте настоящее изобретение также относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная порошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующие пики при угле 2-тета, измеренные посредством CuK_α излучения: 18,095, 17,493 и 19,516.

В предпочтительном варианте настоящее изобретение также относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная по-

рошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующие пики при угле 2-тета, измеренные посредством CuK_α излучения: 18,095, 17,493, 19,516 и 20,088.

В предпочтительном варианте настоящее изобретение также относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, где указанная порошковая рентгеновская дифрактограмма содержит следующие пики при угле 2-тета, измеренные посредством CuK_α излучения: 18,095, 17,493, 19,516, и 20,088, и 17,125.

Краткое описание графических материалов

Дифрактограмма кристаллической формы А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбаната малата, полученная посредством дифрактометра D8-Advance компании Bruker.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к кристаллической форме А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, характеризующейся указанным показателем порошковой рентгеновской дифракции, выраженной в значениях угла 2-тета и относительной интенсивности, имеющей показатель $>0,52\%$ (табл. 1).

Измерения проводились при следующих условиях: устройство:

дифрактометр D8-Advance компании Bruker, тип: Bragg-Brentano; источник $\text{CuK}_\alpha 1$, длина волны=1,5406 Å;

генератор: 35 кВ - 40 мА;

датчик: PSD/Vantec; камера Anton Paar TTK450;

держатель образца Si;

угловое позиционирование: угол Брэгга 2-тета, выраженный в 2° - 40° ;

изменяемая щель расходимости: 4 мм (V4);

размер шага: $0,033^\circ$;

время шага: 1 с.

Таблица 1. В порядке положения угла 2-тета и межатомного расстояния

№	Пол. [угол 2-тета]	Межатомное расстояние [Å]	Относ. инт. [%]
1	7,918	11,1570	9,55
2	10,255	8,6186	7,36
3	11,633	7,6007	14,27
4	14,049	6,2987	28,16
5	14,280	6,1973	45,27
6	15,868	5,5807	4,69
7	17,162	5,1627	100
8	18,028	4,9165	46,12
9	18,153	4,8829	43,86
10	19,688	4,5055	13,34
11	19,878	4,4630	24,63

037527

12	20,308	4,3693	5,01
13	20,449	4,3395	13,21
14	20,617	4,3046	19,14
15	21,079	4,2112	14,8
16	21,691	4,0938	3,3
17	21,981	4,0404	6,56
18	22,203	4,0006	9,02
19	23,422	3,7951	42,99
20	23,794	3,7365	2,73
21	24,273	3,6639	7
22	24,740	3,5955	7,35
23	24,896	3,5736	7,91
24	25,016	3,5567	7,44
25	25,759	3,4558	8
26	25,998	3,4246	3,56
27	27,250	3,2700	22,05
28	27,799	3,2067	2,92
29	28,350	3,1455	5,19
30	28,815	3,0959	6,25
31	29,229	3,0530	2,5
32	29,602	3,0153	6,24
33	30,163	2,9605	5,52
34	30,729	2,9073	2,14
35	31,153	2,8686	4,18
36	31,380	2,8486	2,6
37	31,630	2,8266	1,92
38	31,916	2,8018	2,66
39	32,100	2,7861	1,4
40	32,767	2,7309	1,31
41	33,730	2,6548	1,18
42	34,333	2,6099	3,32
43	34,620	2,5889	2,46
44	34,880	2,5699	4,51
45	35,090	2,5553	4,58
46	35,437	2,5310	2,41
47	36,420	2,4649	0,78
48	36,800	2,4376	0,29
49	37,000	2,4364	0,87
50	38,330	2,3465	1,15
51	38,680	2,3262	0,97
52	38,990	2,3083	1,27
53	39,940	2,2553	1,26
54	40,385	2,2316	1,95
55	40,960	2,2016	1,41

Соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться при лечении метаболического заболевания, такого как лизосомная болезнь накопления (LSD), отдельно или посредством комплексной терапии с применением ферментозаместительной терапии. В другом варианте соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться для ингибирования или снижения активности GCS у субъекта, которому диагностировали метаболическое заболевание, такое как LSD, отдельно или посредством комплексной терапии с применением ферментозаместительной терапии. В других вариантах соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться для снижения уровня и/или блокирования процесса накопления вещества (например, лизосомного субстрата) у субъекта, которому диагностировали метаболическое заболевание, такое как LSD. В некоторых из вышеуказанных вариантов осуществления LSD представляет собой болезнь Гоше (типа 1, типа 2 или типа 3), болезнь Фабри, G_{M1} -ганглиозидоз или G_{M2} -ганглиозидоз (например, недостаточность активатора GM2, болезнь Тея-Сакса и болезнь Сандхоффа). В табл. 1 перечислено множество LSD и показан соответствующий недостающий фермент, который можно использовать для ERT в вариантах осуществления настоящего изобретения, указанных выше.

В других случаях может появиться необходимость в применении терапии малыми молекулами (SMT) для пациента, состояние которого требует снижения субстратов в мозге, при этом лечение которого невозможно посредством систематического применения ERT. В то время как прямое интрацеребровентрикулярное или интратекальное применение может снизить уровни субстрата в мозге, систематическое применение ERT бесполезно против LSD, поражающих центральную нервную систему (CNS), ввиду неспособности ФЗТ преодолевать гематоэнцефалический барьер (BBB) и SMT может оказаться полезной для пациентов, имеющих остаточную ферментную активность в CNS. SMT предназначена для лечения у пациента рака и/или метаболического заболевания, такого как лизосомная болезнь накопления. SMT может включать один или несколько низкомолекулярных препаратов. SMT включает введение пациенту соединения в соответствии с настоящим изобретением.

Соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться для лечения фактически любой болезни накопления, возникающей вследствие дефекта гликофинголипидного пути (например, болезнь Гоше (типа 1, типа 2, типа 3), болезнь Фабри, G_{M1} -ганглиозидоз, G_{M2} -ганглиозидоз (например, недостаточность активатора GM2, болезнь Тея-Сакса и болезнь Сандхоффа)). Соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться для ингибирования и/или снижения накопления Gb3 и/или лизо-Gb3 у пациента, страдающего от болезни Фабри, отдельно или посредством комплексной терапии с применением ферментозаместительной терапии (см. примеры). В предпочтительном варианте ферментозаместительная терапия включает введение альфа-галактозидазы типа А пациенту, страдающему от болезни Фабри. Примеры, представленные ниже, демонстрируют, что ингибитор GCS в соответствии с настоящим изобретением эффективно снижает накопление Gb3 и лизо-Gb3 в мышечной модели болезни Фабри, что подтверждает реальную возможность его применения в лечении болезни Фабри. Кроме того, *in vivo* данные о комплексной терапии, представленные в примерах, однозначно указывают на то, что комплексный терапевтический подход может быть как аддитивным, так и комплементарным.

В некоторых вариантах соединения в соответствии с настоящим изобретением может применяться для снижения уровня ГлюЦер и ГлюСф в мозге субъекта, которому диагностировали невропатическую болезнь Гоше, отдельно или в комбинации с ERT (например, введение глюкоцереброзидазы).

Схемы приема компонента низкомолекулярной терапии комплексной терапии в основном определяются специалистом в данной области и предположительно существенно изменяются в зависимости от конкретной болезни накопления, которую лечат, а также от клинического состояния конкретного зараженного человека. Основные принципы определения схемы приема для конкретной SMT в соответствии с настоящим изобретением для лечения любой болезни накопления хорошо известны специалисту в данной области. Рекомендации касательно схем приема можно получить из любых источников, хорошо известных из уровня техники. Дальнейшие рекомендации доступны в том числе из анализа определенных источников, представленных в данной заявке. В некоторых вариантах осуществления режим дозирования может варьироваться от 0,5 до около 300 мг/кг, предпочтительно от около 5 до около 60 мг/кг (например, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 и 60 мг/кг) посредством внутривенного, перорального или эквивалентного введения от одного до пяти раз в день. Такой режим дозирования может варьироваться от около 5 мг/кг до около 5 г/кг, предпочтительно от около 10 мг/кг до около 1 г/кг для перорального, внутривенного или эквивалентного введения от одного до пяти раз в день. В одном варианте осуществления дозы варьируются от около 10 до около 500 мг/день (например, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300 мг/день). Особенно предпочтительная доза для перорального введения составляет от приблизительно 50 до приблизительно 100 мг, причем доза вводится два раза в сутки. Конкретная пероральная доза для соединения в соответствии с настоящим изобретением составляет от приблизительно 5 до приблизительно 600 мг/кг/день. Конкретная пероральная доза для соединения в соответствии с настоящим изобретением составляет от около 1 до около 120 мг/кг/день, например 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 или 60 мг/кг/день, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 или 120 мг/кг/день.

Соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться в комплексной терапии

посредством SMT, а также посредством ERT терапии для лечения лизосомных болезней накопления. Частичный список известных лизосомных болезней накопления, которые можно вылечить путем применения соединения настоящего изобретения, изложен в табл. 5, содержащей название известной болезни, накапливаемое вещество и соответствующий недостающий фермент (основана на табл. 38-4 Kolodny et al., 1998, Id.).

Таблица 5. Лизосомные болезни накопления

Заболевание	Накапливаемое вещество	Недостающий фермент
Сфинголипидоз		
Болезнь Гоше	Глюкоцереброзид	Глюкоцереброзидаза глюкозилсфингозин
Болезнь Ниманна-Пика	Сфингомиелин	Сфингомиелиназа
Болезнь Ниманна-Пика типа В	Сфингомиелин	Сфингомиелиназа
Болезнь Фарбера	Церамид	Церамидаза
G _{M1} -ганглиозидоз	G _{M1} -ганглиозид, гликопротеин	G _{M1} -ганглиозид-β- галактозидаза
G _{M2} -ганглиозидоз	G _{M2} -ганглиозид,	Гексозаминидаза типа

(болезнь Сандхоффа)	глобозид	А и В
Болезнь Тея-Сакса	G _{M2} -ганглиозид	Гексозаминидаза типа А
Болезнь Краббе	Галактозилцерамид	β - Галактоцереброзидаза
Мукополисахаридоз		
Синдром Гурлер-Шейе (MPS типа I)	Дерматан сульфат, гепарин сульфат	α -L-идуронидаза
Болезнь Хантера (MPS типа II)	Дерматан сульфат, гепарин сульфат	Идуронат сульфатаза
Болезнь Санфилиппо (MPS типа III)		
Тип А	Гепаран сульфат	Гепаран-N-сульфатаза
Тип В	Гепаран сульфат	N-ацетил- α - глюкозаминидаза
Тип С	Гепаран сульфат	ацетил CoA: α - глюкозаминидацетил- трансфераза
Тип D	Гепарансульфат	N-ацетил- α - глюкозамин-6- сульфатаза
Болезнь Маркио (MPS типа IV)		
Тип А	Кератан сульфат	Галактозамин-6- сульфатаза
Тип В	Кератан сульфат	β -галактозидаза
Болезнь Марото-Лами (MPS типа VI)	Дерматан сульфат	Галактозамин-4- сульфатаза (арилсульфатаза типа В)
Болезнь Слая (MPS типа VII)	Дерматан сульфат, гепаран сульфат	β -глюкуронидаза
Мукосульфатидоз	Сульфолипиды, мукополисахариды	арилсульфатаза типа А, В и С, другие сульфатазы

Муколипидоз		
Сиалидоз	Сиалилолигосахариды, гликопротеины	α -нейраминидаза
Муколипидоз типа II	Сиалилолигосахариды, гликопротеины, гликолипиды	Высокое содержание сыворотки, низкое содержание ферментов фибробласта; N-ацетил-глюкозамин-1-фосфат трансфераза
Муколипидоз типа III	Гликопротеины, гликолипиды	То же, что и упомянутое выше
Муколипидоз типа IV	Гликолипиды, гликопротеины	Протеин, проникающий в ген Mcoln1
Другие заболевания, связанные с обменом сложных углеводов		
Болезнь Фабри	Глоботриаозилцерамид (Gb3), лизо-Gb3	α -галактозидаза типа А
Болезнь Шиндлера	O-сцепленные гликопептиды	α -N-ацетилгалактозаминидаза
Болезнь Помпе	Гликоген	α -глюкозидаза
Болезнь накопления сиаловой кислоты	Сиаловая кислота в свободном состоянии	Неизвестно
Фукозидоз	Фукогликолипиды, фукозил-олигосахариды	α -фукозидаза
Маннозидоз	Маннозилолигосахариды	α -маннозидаза
Аспартилглюкозаминурия	Аспартилглюкозамин	Аспартилглюкозаминидаза
Болезнь Вольмана	Холестерилловые эфиры, триглицериды	Кислая липаза

Нейрональные цероидные липофуцинозы (NCL)*		
Инфантильный NCL	Гранулярные осмофильные отложения, сапозины типов А и D тиоэстеразы	Пальмитоил-протеин тиоэстераза (PPT1)
Поздняя детская форма амавротической идиотии	Криволинейные профильные срезы, субъединица с АТР-синтазы	Трипептидилпротеиназа типа 1 (TRP1)
Финский тип	Профили по типу «отпечаток пальцев»/прямолинейные профильные срезы, субъединица с АТР-синтазы	CLN5
Вариантный	Профили по типу «отпечаток пальцев»/прямолинейные профили, субъединица с АТР-синтазы	CLN6
Подростковый	Профиль по типу «отпечаток пальцев», субъединица с АТР-синтазы	CLN3
Взрослый	Различный	Неизвестный
Северная эпилепсия	Прямолинейный профиль, субъединица с АТР-синтазы	CLN8
Турецкий тип	Профили по типу «отпечаток пальцев»/прямоли-	Неизвестный
	нейные профили - компоненты неизвестны	
Лизосомные заболевания систем переноса и метаболизма холестерина		
Болезнь Ниманна-Пика типа С	Неэстерифицированный холестерол	NPC1 или NPC2

*Davidson et al., The Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, Clinical Features and Molecular Basis of Disease. In Barranger J.A. and Cabrera-Salazar M.A. (Eds) Lysosomal Storage Disorders. 2007. pp.371-388. Springer, New York, U.S.A.

Для наблюдения за статусом заболевания и эффективностью комплексной терапии можно применять любой способ, известный специалисту в данной области. Клинические показатели статуса заболевания могут включать, но не ограничиваться объемом органов (например, печени, селезенки), уровнем гемоглобина, содержанием эритроцитов, гематокритом, тромбоцитопенией, кахексией (истощением) и уровнем плазмы хитиназы (например, хитотриозидазы). Хитотриозидаза, фермент семейства хитиназы, известен как такой, который вырабатывается макрофагами в больших количествах у субъектов, страдающих от лизосомных болезней накопления (см. Guo et al., 1995, *J. Inherit. Metab. Dis.* 18, 717-722; den Tandt et al., 1996, *J. Inherit. Metab. Dis.* 19, 344-350; Dodelson de Kremer et al., 1997, *Medicina (Buenos Aires)* 57, 677-684; Czartoryska et al., 2000, *Clin. Biochem.* 33, 147-149; Czartoryska et al., 1998, *Clin. Biochem.* 31, 417-420; Mistry et al., 1997, *Baillieres Clin. Haematol.* 10, 817-838; Young et al., 1997, *J. Inherit. Metab. Dis.* 20, 595-602; Hollak et al., 1994, *J. Clin. Invest.* 93, 1288-1292). Хитотриозидаза предпочтительно измеряется посредством ангиотензин-превращающего фермента и неустойчивой к тартрату кислой фосфатазы для контроля реакции на лечение пациентов, страдающих от болезни Гоше.

Способы и лекарственные препараты, предназначенные для применения комплексной терапии, включают все способы и препараты, известные из уровня техники (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 1980 и последующие годы, 16^е изд. и последующие издания, под редакцией A. Oslo, Easton Pa.; *Controlled Drug Delivery*, 1987, 2nd rev., Joseph R. Robinson & Vincent H. L. Lee, eds., Marcel Dekker, ISBN: 0824775880; *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, 1999, Edith Mathiowitz, John Wiley & Sons, ISBN: 0471148288; пат. США № 6066626 и источники, указанные в нем; также см. источники, указанные в последующих разделах).

Указанные общие подходы применимы для комплексной терапии лизосомных болезней накопления. Каждый общий подход включает объединение ферментозаместительной терапии с низкомолекулярной терапией посредством способа, направленного на достижение наилучшего клинического результата, исключая при этом недостатки, проявляющиеся при применении каждой терапии по отдельности.

В одном варианте ферментозаместительную терапию (отдельно или в комбинации с низкомолекулярной терапией) применяют для начала лечения (т.е. для циторедукции субъекта), а низкомолекулярную терапию применяют после циторедуктивной фазы для достижения и поддержания стабильного, длительного терапевтического эффекта без необходимости в частых внутривенных инъекциях ERT. Например, ферментозаместительный препарат можно ввести внутривенно (например, на протяжении двух или трех часов) единожды, еженедельно, раз в две недели или раз в два месяца, в течение нескольких недель или месяцев, или дольше (например, пока пораженный индикаторный орган, такой как селезенка или печень, не начнет уменьшаться в размере). Более того, фаза ERT начального циторедуктивного лечения может осуществляться отдельно или в комбинации с низкомолекулярной терапией. Компонент низкомолекулярной терапии наиболее предпочтителен там, где синтетический препарат необходимо вводить перорально, таким образом, обеспечивая последующую защиту от частого внутривенного воздействия.

Взаимозамена ERT и SMT или объединение SMT с ERT при необходимости обеспечивает подход, заключающийся в одновременном использовании эффективных преимуществ и устранении недостатков, проявляющихся с применением каждой терапии по отдельности. Преимущество ERT, будь то примененного для циторедукции и/или для обеспечения более длительного эффекта, чаще применяется в клинической практике и является доступной информацией, необходимой для принятия решений специалистом в данной области. Более того, субъект может быть эффективно оттитрован посредством ERT в процессе циторедукции, например посредством исследования биохимических метаболитов в моче или других анализов, или посредством измерения объема пораженного органа. Недостатком ERT, однако, является необходимость в ее частом применении, как правило, включающее внутривенную инъекцию еженедельно или каждые две недели ввиду постоянного вторичного накопления субстрата. Применение низкомолекулярной терапии для снижения количества или ингибирования накопления субстрата у пациента может, в свою очередь, снизить частоту применения ERT. Например, двухнедельная схема применения ферментозаместительной терапии может обеспечить "Отдых от ERT" (например, применяя SMT), таким образом, частые инъекции фермента не являются необходимой мерой. Кроме того, лечение лизосомной болезни накопления посредством комплексной терапии может привести к дополнительным терапевтическим подходам. Как показано в примерах ниже, комплексная терапия с применением SMT и ERT может обеспечить значительные улучшения по сравнению с применением каждой терапии в отдельности. Эти данные указывают на то, что комплексная терапия с применением SMT и ERT может быть как аддитивной, так и комплементарной. В одном варианте осуществления ERT может применяться в качестве циторедуктивной стадии (т.е. для начала лечения), за которым следует или одновременно применяться SMT с применением соединения в соответствии с настоящим изобретением. В другом варианте осуществления пациента сначала лечат посредством SMT с применением соединения в соответствии с настоящим изобретением с последующим или одновременным применением ERT. В других вариантах осуществления SMT применяют для ингибирования или снижения дополнительного накопления субстрата (или вторичного накопления субстрата при применении после циторедукции посредством ERT) у пациента, страдающего от лизосомной болезни накопления, и дополнительно применяют ERT при необ-

ходимости снижения любого дополнительного накопления субстрата. Известно, что для некоторых комплексных терапий низкомолекулярная терапия может применяться перед, одновременно с или после применения ферментозаместительной терапии. Таким же образом ферментозаместительная терапия может применяться перед, одновременно с или после применения низкомолекулярной терапии.

В любом из вариантов лизосомная болезнь накопления выбрана из группы, состоящей из болезни Гоше (типы 1, 2 и 3), болезни Ниманна-Пика, болезни Фарбера G_{M1} -ганглиозидоза, G_{M2} -ганглиозидоза (например, недостаточности активатора $GM2$, болезни Тея-Сакса и болезни Сандхоффа), болезни Краббе, синдрома Гурлера-Шейе (MPS типа I), болезни Хантера (MPS типа II), болезни Санфилиппо (MPS типа III) Типа А, болезни Санфилиппо (MPS типа III) Типа В, болезни Санфилиппо (MPS типа III) Типа С, болезни Санфилиппо (MPS типа III) Типа D, болезни Маркио (MPS типа IV) Типа А, болезни Маркио (MPS типа IV) Типа В, болезни Марото-Лами (MPS типа VI), болезни Слая (MPS типа VII), мукосульфатидоза, сиалидоза, муколипидоза типа II, муколипидоза типа III, муколипидоза типа IV, болезни Фабри, болезни Шиндлера, болезни Помпе, болезни накопления сиаловой кислоты, фукозидоза, маннозидоза, аспартилглюкозаминурии, болезни Вольмана, и нейронального цероидного липофусциноза.

Дополнительно ERT обеспечивает эффективное количество по меньшей мере одного из следующих ферментов; глюкоцереброзидазы, сфингомиелиназы, церамидазы, G_{M1} -ганглиозид-бета-галактозидазы, гексозаминидазы А, гексозаминидазы В, бета-галактоцереброзидазы, альфа-L-идуронидазы, идуронат-сульфатазы, гепаран-N-сульфатазы, N-ацетил-альфа-глюкозаминидазы, ацетил CoA:альфа-глюкозаминид ацетил-трансферазы, N-ацетил-альфа-глюкозамин-6-сульфатазы, галактозамин-6-сульфатазы, бета-галактозидазы, галактозамин-4-сульфатазы (арилсульфатазы типа В), бета-глюкуронидазы, арилсульфатазы типа А, арилсульфатазы типа С, альфа-нейроминидазы, N-ацетил-глюкозамин-1-фосфата трансферазы, альфа-галактозидазы типа А, альфа-N-ацетилгалактозаминидазы, альфа-глюкозидазы, альфа-фукозидазы, альфа-маннозидазы, аспартилглюкозамин амидазы, кислой липазы, палмитоил-протеин тиоэстеразы (CLN-1), PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, NPC1 или NPC2.

SMT и/или ERT обеспечивают снижение количества по меньшей мере одного из следующих накопленных веществ; глюкоцереброзида, сфингомиелина, церамида, G_{M1} -ганглиозида, G_{M2} -ганглиозида, глобозида, галактозилцерамида, дерматан сульфата, гепаран сульфата, кератан сульфата, сульфатидов, мукополисахаридов, сиалилолигосахаридов, гликопротеинов, сиалилолигосахаридов, гликолипидов, глоботриаозилцерамида, O-сцепленных гликопептидов, гликогена, свободной сиаловой кислоты, фукогликолипидов, фукозилолигосахаридов, маннозилолигосахаридов, аспартилглюкозамина, холестероловых эфиров, триглицеридов, гранулярных осмофильных отложений Сапозингов типов А и D, субъединицы сАТР-синтазы, NPC1 или NPC2.

Низкомолекулярная терапия может включать введение субъекту одного или нескольких соединений, где одно из соединений является соединением в соответствии с настоящим изобретением.

Ферментозаместительная терапия может вызвать нежелательные реакции иммунной системы. Следовательно, вместе с компонентом ферментозаместительной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением могут быть применены иммунодепрессанты. Указанные препараты также могут применяться и с компонентом низкомолекулярной терапии, однако здесь необходимость в их применении гораздо меньше. Любой иммунодепрессант, известный специалисту в данной области, может применяться с комплексной терапией в соответствии с настоящим изобретением. Указанные иммунодепрессанты включают, но не ограничиваются циклоспорином, FK506, рапамицином, CTLA4-Ig и анти-TNF препаратами, такими как этанерцепт (см., например, Moder, 2000, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 84, 280-284; Nevins, 2000, *Curr. Opin. Pediatr.* 12, 146-150; Kurlberg et al., 2000, *Scand. J. Immunol.* 51, 224-230; Ideguchi et al., 2000, *Neuroscience* 95, 217-226; Potter et al., 1999, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 875, 159-174; Slavik et al., 1999, *Immunol. Res.* 19, 1-24; Gaziev et al., 1999, *Bone Marrow Transplant.* 25, 689-696; Henry, 1999, *Clin. Transplant.* 13, 209-220; Gummert et al., 1999, *J. Am. Soc. Nephrol.* 10, 1366-1380; Qi et al., 2000, *Transplantation* 69, 1275-1283). Анти-IL2 рецептор (альфа-субъединица) антитело даклизумаб (например, Zenarax Т.М.), которым была доказана эффективность для пациентов с пересаженными органами, может также применяться и в качестве иммунодепрессанта (см., например, Wiseman et al., 1999, *Drugs* 58, 1029-1042; Benjaminovitz et al., 2000, *N. Engl. J. Med.* 342, 613-619; Ponticelli et al., 1999, *Drugs R. D.* 1, 55-60; Berard et al., 1999, *Pharmacotherapy* 19, 1127-1137; Eckhoff et al., 2000, *Transplantation* 69, 1867-1872; Ekberg et al., 2000, *Transpl. Int.* 13, 151-159). Дополнительно антидепрессанты включают, но не ограничиваются, анти-CD2 (Branco et al., 1999, *Transplantation* 68, 1588-1596; Przepiorka et al., 1998, *Blood* 92, 4066-4071), анти-CD4 (Marinova-Mutafchieva et al., 2000, *Arthritis Rheum.* 43, 638-644; Fishwild et al., 1999, *Clin. Immunol.* 92, 138-152) и анти-CD40 лиганд (Hong et al., 2000, *Semin. Nephrol.* 20, 108-125; Chirmule et al., 2000, *J. Virol.* 74, 3345-3352; Ito et al., 2000, *J. Immunol.* 164, 1230-1235).

Любую комбинацию антидепрессантов, известных специалисту в данной области, можно применять с комплексной терапией. Одна часто применяемая комбинация иммунодепрессантов включает в себя такролимус (FK506) плюс сиролимус (рапамицин) плюс даклизумаб (антитело к альфа-субъединице рецептора для IL-2). Указанная комбинация является эффективной альтернативой стероидам и циклоспоринолу, особенно в применении для лечения печени. Более того, указанная комбинация недавно показала применимость при трансплантации островковых клеток поджелудочной железы. См. Denise Grady, The

New York Times, Saturday, May 27, 2000, pages A1 и All. Также см. A. M. Shapiro et al., Jul. 27, 2000, "Islet Transplantation In Seven Patients With Type 1 Diabetes Mellitus Using A Glucocorticoid-Free Immunosuppressive Regimen", N. Engl. J. Med. 343, 230-238; Ryan et al., 2001, Diabetes 50, 710-719. Плазмафорез по любому из известных из уровня техники способов также применим для удаления или уменьшения количества антител, которые могут появиться при применении различных компонентов комплексной терапии.

Индикаторы иммунного статуса, применимые с изобретением, включают, но не ограничиваются, антитела и любые цитокины, известные специалисту в данной области, например интерлейкины, CSF и интерфероны (см. в основном, Leonard et al., 2000, J. Allergy Clin. Immunol. 105, 877-888; Oberholzer et al., 2000, Crit. Care Med. 28 (4 Suppl.), N3-N12; Rubinstein et al., 1998, Cytokine Growth Factor Rev. 9, 175-181). Например, антитела особенно иммунореактивны на ферментозаместители и могут быть исследованы для определения иммунного статуса субъекта. Среди двух десятков или около того известных интерлейкинов наиболее предпочтительными индикаторами иммунного статуса являются IL-1.альфа., IL-2, IL-4, IL-8 и IL-10. Среди колониестимулирующих факторов (CSF) наиболее предпочтительными индикаторами иммунного статуса являются G-CSF, GM-CSF и M-CSF. Среди интерферонов один или более альфа, бета или гамма интерферонов являются предпочтительными индикаторами иммунного статуса.

В последующих разделах представлены различные компоненты, которые могут применяться против восьми определенных лизосомных болезней накопления (таких как, болезнь Гоше (включая типы 1, 2 и 3), болезнь Фабри, болезнь Ниманна-Пика типа В, болезнь Хантера, болезнь Моркио, болезнь Марото-Лами, болезнь Помпе и синдром Гурлера-Шейе). В последующих разделах дополнительно раскрыты компоненты ферментозаместительной терапии и низкомолекулярной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением.

Болезнь Гоше

Как указано выше, болезнь Гоше вызвана недостаточностью фермента глюкоцереброзидазы (бета-D-глюкозил-N-ацилсфингозин глюкогидролазы, ЕС 3.2.1.45), а также накоплением глюкоцереброзида (глюкозилцерамида). Доступен ряд источников, которые раскрывают удовлетворительные схемы применения и другую полезную информацию касательно лечения болезни Гоше посредством компонента ферментозаместительной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением (см. Morales, 1996, Gaucher's Disease: A Review, The Annals of Pharmacotherapy 30, 381-388; Rosenthal et al., 1995, Enzyme Replacement Therapy for Gaucher Disease: Skeletal Responses to Macrophage-targeted Glucocerebrosidase, Pediatrics 96, 629-637; Barton et al., 1991, Replacement Therapy for Inherited Enzyme Deficiency--Macrophage-targeted Glucocerebrosidase for Gaucher's Disease, New England Journal of Medicine 324, 1464-1470; Grabowski et al., 1995, Enzyme Therapy in Type 1 Gaucher Disease: Comparative Efficacy of Mannose-terminated Glucocerebrosidase from Natural and Recombinant Sources, Annals of Internal Medicine 122, 33-39; Pastores et al., 1993, Enzyme Therapy in Gaucher Disease Type 1: Dosage Efficacy and Adverse Effects in 33 Patients treated for 6 to 24 Months, Blood 82, 408-416); и Weinreb et al., Am. J. Med.; 113(2):112-9 (2002).

В одном варианте осуществления представлена схема применения ERT с количеством от 2,5 единиц на килограмм (Ед/кг) три раза в неделю до 60 Ед/кг один раз каждые две недели, причем фермент вводят внутривенно в течение 1-2 ч. Единица глюкоцереброзидазы определяется как количество фермента, катализирующего гидролиз одной микромоли синтетического субстрата пара-нитрофенил-п-D-глюкопиранозиды в минуту при 37°C. В другом варианте осуществления предложена схема применения от 1 Ед/кг три раза в неделю до 120 Ед/кг один раз каждые две недели. В еще одном варианте осуществления предложена схема применения от 0,25 Ед/кг ежедневно или три раза в неделю до 600 Ед/кг один раз каждые две-шесть недель.

Алглюцераза (Цередаза®) производится компанией Genzyme Corporation с 1991 года. Алглюцераза - это модифицированная форма глюкоцереброзидазы, полученная плацентарным способом. Имиглюцераза (Церезим®) также начал производиться компанией Genzyme Corporation в 1994 году. Имиглюцераза представляет собой модифицированную форму глюкоцереброзидазы, полученную посредством биосинтеза рекомбинантной ДНК в системе клеточной культуры млекопитающих (овариальных клеток китайских хомячков). Имиглюцераза - это мономерный гликопротеин 497 аминокислот, содержащий четыре N-сцепленные гликозилированные локализации. Преимуществами имиглюцеразы являются его теоретическая неисчерпаемость и низкая вероятность биологических загрязнений, в отличие от алглюцеразы, полученной плацентарным способом. Указанные ферменты модифицированы на гликозилированных локализациях для выделения маннозных остатков, данный прием улучшает действие лизосом посредством рецептора манноза-6-фосфата. Имиглюцераза отличается от плацентной глюкоцереброзидазы одной аминокислотой, имеющей позицию 495, где гистидин замещен аргинином. Несколько схем применения указанных веществ являются эффективными (см. Morales, 1996, Id.; Rosenthal et al., 1995, Id.; Barton et al., 1991, Id.; Grabowski et al., 1995, Id.; Pastores et al., 1993, Id.). Например, схема применения с 60 Ед/кг один раз каждые две недели обеспечивает клинический результат у субъекта, подверженного тяжелой степени заболевания. Источники, указанные выше, а также листовки-вкладыши в упаковках данных веществ должны проверяться специалистом в данной области на предмет предоставления информации о дополнительных схемах применения и введения. Также, см. пат. США № 5236838 и 5549892, принадлежащие

компания Genzyme Corporation.

Как указано ранее, болезнь Гоше является результатом недостаточности лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (GC). В наиболее распространенном фенотипе болезни Гоше (типа 1), патология ограничена ретикулоэндотелиальной и костной системами, при этом невропатические симптомы отсутствуют. См. Barranger, Glucosylceramide lipidosis: Gaucher disease. In: Scriver CR BA, Sly WS, Valle D, editor. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill. pp.3635-3668 (2001). В невропатической форме болезни Гоше (nGD), разделенной на болезни Гоше типа 2 и типа 3, недостаточность глюкоцереброзидазы (GC) приводит к накоплению в мозге глюкозилцерамида (GluCer; GL-1) и глюкозилсфингозина (GluSph), что приводит к неврологическому дефициту. Болезнь Гоше типа 2 характеризуется ранним проявлением, быстрым прогрессированием, экстенсивной патологией внутренних и центральной нервной системы и смертью обычно к 2-х летнему возрасту. Болезнь Гоше типа 3, также известная как подростковая nGD, является средним фенотипом, проявляющимся в разных возрастах и имеющим разные степени тяжести и уровни прогрессирования. Goker-Alpan et al., *The Journal of Pediatrics* 143: 273-276 (2003). Последнее усовершенствование позволило воспроизвести мышиную модель K14 Inl/Inl болезни Гоше типа 2 (далее "K14 мышь"); указанная мышинная модель точно повторяет заболевание человека, проявляющее атаксию, пароксизм, спастичность и сниженную среднюю продолжительность жизни всего за 14 дней. Enquist et al., *PNAS* 104: 17483-17488 (2007).

Как и в случае с пациентами, страдающими от nGD, в нескольких мышинных моделях заболевания повысились уровни GluCer и GluSph в мозге ввиду отсутствия активности GC. Liu et al., *PNAS* 95: 2503-2508 (1998) и Nilsson, J. *Neurochem* 39: 709-718 (1982). "K14" мыши демонстрируют невропатический фенотип, который имеет множество схожих патологических черт с болезнью Гоше типа 2, таких как нейродегенерация, астроглиоз, микроглиальная пролиферация и повышенные уровни GluCer и GluSph в определенных областях мозга. Enquist et al. (2007).

Клиническое ведение пациентов, пораженных nGD (нейропатическая форма болезни Гоше), является непростым заданием для специалиста в данной области, как ввиду степени тяжести заболевания типа 2, так и ввиду невозможности существующих терапий преодолеть гематоэнцефалический барьер (BBB). Сегодняшние подходы к лечению болезней, не связанных с nGD, основаны на освобождении рекомбинантной глюкоцереброзидазы человека (Имиглюцераза; Церезим™) с целью замещения отсутствующего фермента или введения ингибиторов синтазы глюкозилцерамида в разжиженный субстрат (GL-1). Однако указанные препараты не преодолевают гематоэнцефалический барьер и, следовательно, не приводят к терапевтическому результату пациентов с nGD. Имеющиеся ингибиторы синтазы глюкозилцерамида низкомолекулярной терапии в клиническом смысле не направлены на лечение невропатических фенотипов nGD (нейропатическая форма болезни Гоше).

Болезнь Фабри

Как указано ранее, болезнь Фабри вызвана недостаточностью лизосомного фермента альфа-галактозидазы типа А. Ферментная недостаточность приводит к систематическому отложению гликофинголипидов, включающих конечные группы альфа-галактозила, преимущественно глоботриаозилцерамида (GL3 или Gb3) и в меньшей степени галабиозилцерамида и гликофинголипидов III группы крови.

Существует несколько способов исследования болезни и определения того, когда переходить от одного способа терапии к другому. В одном варианте осуществления может применяться способ определения активности альфа-галактозидазы типа А в образце ткани. В другом варианте осуществления может применяться способ определения накопления Gb3. В другом варианте осуществления специалист может исследовать отложение субстратов гликофинголипида в биологических жидкостях и в лизосомах васкулярных эндотелиальных, перителиальных и гладкомышечных клетках кровеносных сосудов. Другие клинические проявления, которые могут являться полезными индикаторами заболевания, включают протеинурию или другие признаки почечной недостаточности, такие как красные клетки или липидные шарики в моче, а также повышенную реакцию оседания эритроцитов. Также могут быть выявлены анемия, повышенная концентрация железа в сыворотке крови, высокая концентрация бета-тромбоглобулина и повышенное число ретикулоцитов или агрегация тромбоцитов. Однако для исследования прогрессирования заболевания может применяться любой подход, известный специалисту в данной области (см. в основном Desnick R.J. et al., 1995, *alpha-Galactosidase A Deficiency: Fabry Disease*, In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, Scriver et al., eds., McGraw-Hill, N.Y., 7.sup.th ed., pages 2741-2784). Стандартным суррогатным маркером для исследования протекания болезни Фабри является боль. Другие стандартные способы включают показатель полного выведения фермента и/или субстрата из биологических жидкостей или биоптата. Стандартной схемой применения для ферментозаместительной терапии является 1-10 мг/кг i.v. через день. Можно применять схему применения от 0,1 до 100 мг/кг i.v. с частотой от через день до одного раза в неделю или две недели.

Болезнь Ниманна-Пика типа В

Как указано ранее, болезнь Ниманна-Пика типа В вызвана пониженной активностью сфингомиелиназы кислоты лизосомного фермента и накоплением мембранных липидов, главным образом сфингомиелина. Эффективная доза сфингомиелиназы замещающей кислоты, необходимой для приема, может составлять от около 0,01 до около 10 мг/кг массы тела с частотой приема от через день до еженедельно,

один раз каждые две недели или один раз каждые два месяца. В других вариантах осуществления эффективная доза может варьироваться от около 0,03 до около 1 мг/кг; от около 0,03 до около 0,1 мг/кг; и/или от около 0,3 до около 0,6 мг/кг. В частном варианте осуществления пациент последовательно принимает кислую сфингомиелиназу в соответствии с возрастающей схемой применения по следующим дозам: 0,1 мг/кг; 0,3 мг/кг; 0,6 мг/кг; и 1,0 мг/кг, причем каждая доза кислой сфингомиелиназы принимается по меньшей мере дважды и каждую дозу вводят с интервалами в две недели, причем пациента исследуют на наличие токсичных побочных эффектов перед увеличением дозы на следующем этапе (см. заявку на патент США № 2011/0052559).

Синдром Гурлера-Шейе (MPS типа I)

Синдром Гурлера, Шейе и Гурлера-Шейе также известен как MPS типа I, вызван инактивацией альфа-идуронидазы и скоплением дерматан сульфата и гепаран сульфата. Доступны несколько способов исследования прогрессирования болезни MPS типа I. Например, активность фермента альфа-идуронидазы можно наблюдать в биоптате ткани или в культивируемых клетках, полученных из периферической крови. Кроме того, подходящим показателем прогрессирования болезни MPS типа I и других мукополисахаридоз является выделение вместе с мочой дерматан сульфата гликозаминогликанов и гепаран сульфата (см. Neufeld et al., 1995, Id.). В частном варианте осуществления фермент альфа-идуронидазы вводят один раз в неделю внутривенно в количестве 0,58 мг/кг массы тела.

Болезнь Хантера (MPS типа II)

Болезнь Хантера (или MPS типа II) вызвана инактивацией идуранат сульфатазы и скоплением дерматан сульфата и гепаран сульфата. Болезнь Хантера с клинической точки зрения имеет тяжелую и слабую формы. Схема применения терапевтического фермента от 1,5 мг/кг каждые две недели до 50 мг/кг каждую неделю является предпочтительной.

Болезнь Моркио (MPS типа IV)

Синдром Моркио (или MPS типа IV) является результатом накопления кератан сульфата ввиду инактивации любого из двух ферментов. В MPS типа IVA инактивированным ферментом является галактозамин-6-сульфатаза, а в MPS типа IVB инактивированным ферментом является бета-галактозидаза. Предпочтительной схемой применения терапевтического фермента является от 1,5 мг/кг каждые две недели до 50 мг/кг каждую неделю.

Болезнь Марото-Лами (MPS типа VI)

Синдром Марото-Лами (или MPS типа VI) вызван инактивацией алактозамин-4-сульфатазы (арил-сульфатазы типа B) и скоплением дерматан сульфата. Схема применения от 1,5 мг/кг каждые две недели до 50 мг/кг каждую неделю является предпочтительным интервалом для эффективного терапевтического фермента, применяемого в ERT. Предпочтительно применяемая доза меньше или равна 10 мг/кг в неделю. Предпочтительным суррогатным маркером прогрессирования болезни MPS типа VI являются уровни протеогликана.

Болезнь Помпе

Болезнь Помпе вызвана инактивацией кислого фермента альфа-глюкозидазы и скоплением гликогена. Ген кислой альфа-глюкозидазы хранится в хромосоме 17 человека и именуется GAA. H.G. Hers первым предложил концепт врожденной лизосомной болезни, основанный на его изучении данного заболевания, которому он дал название болезнь накопления гликогена типа II (GSD типа II) и которое сейчас называют генерализованным гликогенозом (AMD) (см. Hers, 1965, Gastroenterology 48, 625). В частном варианте осуществления GAA вводят каждые 2 недели внутривенно дозой 20 мг/кг массы тела.

Доступны несколько способов исследования прогрессирования болезни Помпе. Можно применять любой способ, известный специалисту в данной области. Например, можно применить интра-лизосомное накопление гранул гликогена, в частности в миокарде, печени и волокнах скелетных мышц, полученное в результате биопсии. Активность фермента альфа-глюкозидазы также можно исследовать в биоптате клетки или в культивируемых клетках, полученных из периферической крови. Уровень сыворотки креатинкиназы (СК) можно рассматривать в качестве показателя прогрессирования заболевания. Уровень сыворотки СК можно увеличить до десяти раз у пациентов-подростков и, как правило, увеличить до меньшего уровня у взрослых пациентов. См. Hirschhorn R, 1995, Glycogen Storage Disease Type II: Acid alpha-Glucosidase (Acid Maltase) Deficiency, In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver et al., eds., McGraw-Hill, N.Y., 7.sup.th ed., pages 2443-2464.

Ферментозаместительная терапия

В данных разделах изложено частное раскрытие, а также альтернативные варианты осуществления компонента ферментозаместительной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением. Обычно схемы применения компонента ферментозаместительной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением определяются специалистом в данной области. Выше приведены несколько примеров схем применения для лечения болезни Гоше посредством глюкоцереброзидазы. Основные принципы определения схемы применения любого указанного компонента ERT комплексной терапии для лечения любой LSD будут ясны специалисту в данной области из имеющихся сведений, таких как, например, обзор определенных источников информации в данных разделах для каждой конкретной LSD. ERT может быть применена к пациенту внутривенно.

Интрацеребровентрикулярное и/или интратекальное введение может использоваться (например, в дополнение к внутривенному введению) для применения ERT к пациенту, которому диагностировали лизосомную болезнь накопления, проявляющуюся в ЦНС.

Для производства ферментов для применения в компонентах ферментозаместительной терапии комплексной терапии применим любой известный способ. Известно множество подобных способов, включающих, но не ограничивающихся, технологию активации генов, разработанную Shire plc (см. пат. США № 5968502 и 5272071).

Низкомолекулярная терапия

В данном разделе также изложены частные раскрытия и альтернативные варианты осуществления, применимые к компоненту низкомолекулярной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением. Схемы применения компонента низкомолекулярной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением обычно определяются специалистом в данной области и, как правило, разительно отличаются друг от друга в зависимости от конкретной болезни накопления, которую лечат, а также от клинического состояния конкретного больного. Общие принципы определения схемы применения для указанного компонента SMT любой комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением для лечения любой болезни накопления хорошо известны специалисту в данной области. Рекомендации касательно схем применения можно получить из множества источников, хорошо известных из уровня техники. Дальнейшие рекомендации доступны в том числе из анализа определенных источников, представленных в данной заявке.

В общем, соединение в соответствии с настоящим изобретением может применяться в комплексных терапиях в соответствии с настоящим изобретением для лечения практически любой болезни накопления, являющейся причиной патологического изменения в пути гликофинголипида (например, болезни Гоше, болезни Фабри, G_{M1} -ганглиозидоза и G_{M2} -ганглиозидоза (например, недостаточности активатора $GM2$, болезни Тея-Сакса и болезни Сандхоффа)). Аналогично, аминогликозиды (например, гентамицин, G418) могут быть задействованы в комплексных терапиях любого пациента, имеющего болезнь накопления с мутацией, вводящей стоп-кодон и препятствующей созреванию последовательности (т.е. нонсенс-мутацией), в соответствии с настоящим изобретением. Подобные мутации довольно распространены при синдроме Гурлера. Компонент низкомолекулярной терапии комплексной терапии в соответствии с настоящим изобретением, в отличие от других терапий, является особенно предпочтительным при лечении выявленного проявления болезни накопления в центральной нервной системе (например, болезни Сандхоффа, болезни Тея-Сакса, болезни Ниманна-Пика типа А и болезни Гоше типа 2 и 3) ввиду того, что малые молекулы способны в основном с легкостью преодолевать гематоэнцефалический барьер.

Предпочтительные дозы ингибиторов субстрата, применяемых в комплексной терапии, легко определяются специалистом в данной области. В некоторых вариантах осуществления такие дозы могут составлять от около 0,5 до около 300 мг/кг, предпочтительнее от около 5 до около 60 мг/кг (например, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 и 60 мг/кг) посредством внутривентрикулярного, перорального или эквивалентного введения от одного до пяти раз в день. Подобные дозы могут составлять от около 5 мг/кг до около 5 г/кг, предпочтительнее от около 10 мг/кг до около 1 г/кг для перорального, внутривентрикулярного или эквивалентного введения от одного до пяти раз в день. В одном варианте осуществления дозы могут составлять от около 10 до около 500 мг/день (например, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300 мг/день). Особенно предпочтительная доза для перорального введения составляет от приблизительно 50 до приблизительно 100 мг, причем доза вводится два раза в сутки.

Конкретная пероральная доза для соединения в соответствии с настоящим изобретением составляет от приблизительно 5 до приблизительно 600 мг/кг/день. Конкретная пероральная доза для соединения в соответствии с настоящим изобретением составляет от около 1 до около 100 мг/кг/день, например 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 или 60 мг/кг/день, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг/кг/день.

Взаимозамена комбинации терапевтических баз (т.е. ферментозаместительной и низкомолекулярной терапии) является предпочтительной. Однако субъекты также можно лечить посредством совместного применения при необходимости обоих подходов, если это определено специалистом в данной области. Примеры схем лечения могут включать, но не ограничиваться: (1) SMT, за которой следует ERT; (2) ERT, за которой следует SMT; (3) ERT и SMT, применяемые приблизительно одновременно. Как указано выше, временное совмещение терапевтических баз также может применяться при необходимости, в зависимости от клинической направленности указанной болезни накопления в конкретном субъекте.

Интервалы лечения для различных комплексных терапий могут значительно отличаться и могут в основном отличаться в зависимости от разных болезней накопления и пациентов, в зависимости от того, насколько активно скапливаются накапливаемые вещества. Например, скопление веществ, накапливаемых при болезни Фабри, может проходить медленно по сравнению с быстрым скоплением веществ, накапливаемых при болезни Помпе. Подбор доз для конкретной болезни накопления у конкретного человека проводится специалистом в данной области посредством исследования клинических проявлений прогрессирующей болезни и удачного излечения.

Различные макромолекулы, скапливаемые при лизосомной болезни накопления, не распределяются

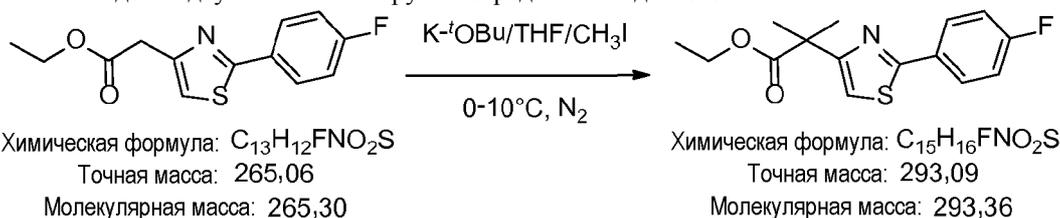
равномерно, а откладываются в определенных предпочтительных для каждого заболевания анатомических частях. Однако появившийся извне фермент обычно подхватывается клетками ретикулоэндотелиальной системы и скапливается в лизосомной части, где расщепляет накопленный субстрат. Более того, подхватывание клетками терапевтического фермента может обеспечиваться определенными действиями для увеличения направленного взаимодействия лизосом (см., например, патент США № 5549892, Friedman et al., принадлежащий компании Genzyme Corporation, который описывает рекомбинантную глюкоцереброзидазу, имеющую улучшенную фармакокинетику ввиду ремоделированных цепей олигосахаридов, распознанных рецепторами маннозы поверхности клетки, которые являются эндоцитозированными и перенесенными лизосомам).

Некоторые способы терапии лечат одни пораженные органы лучше, чем другие. При болезни Фабри, например, когда ERT не достаточно хорошо влияет на почку, для удовлетворительного клинического эффекта можно использовать SMT для снижения уровней субстрата в почке. Как показано на примере 112 и фиг. 6B, SMT эффективно снижает уровни Gb3 (т.е. субстрат, накопленный у пациентов с болезнью Фабри) в моче мышинной модели болезни Фабри до гораздо меньшего количества, чем при ERT. Почка является главным источником Gb3 в моче. На фиг. 6B, напротив, показано эффективное снижение уровней Gb3 в плазме посредством ERT до гораздо меньшего количества, чем при SMT. Указанные результаты показывают, что комплексная терапия с использованием как ERT, так и SMT обеспечивает совместную терапевтическую стратегию, которая обеспечивает преимущество и решает проблемы неэффективности, связанной с использованием каждого препарата по отдельности. SMT способен преодолевать BBB, обеспечивая эффективный подход в комбинации с ERT, для лечения LSD, оказывающих влияние на ЦНС, таких как болезнь Ниманна-Пика Типа А и невропатическая болезнь Гоше (nGD). Более того, снижение уровня субстрата посредством SMT в комбинации с ферментозаместителем отдельно решает проблему накопления и определяет пороги срабатывания, которые могут улучшить клинический результат.

Понятно, что в отсылке на одновременное или последовательное применение двух или более терапий нет указаний на их обязательное одновременное применение, а лишь на их одновременное действие в субъекте.

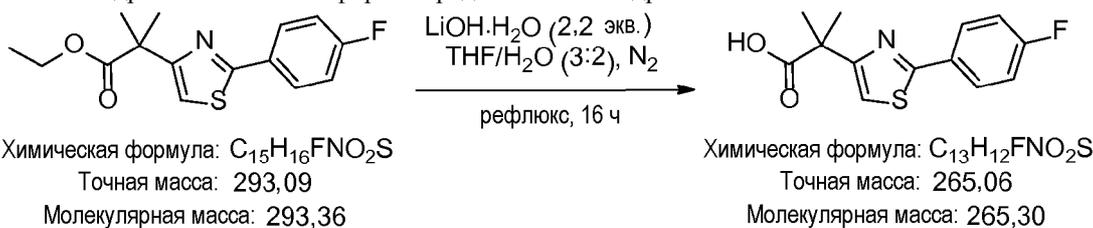
Пример 1 (S)-Хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат.

Этап 1: введение двух метильных групп посредством йодистого метила.



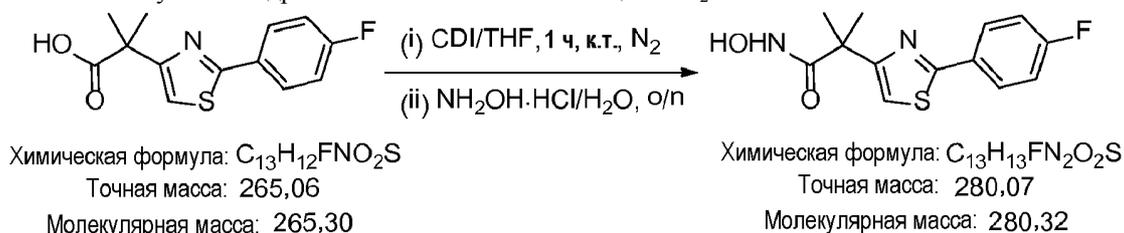
Процедура: сосуд с 3 горлами и закругленным дном оснащали термометром, воронкой для внесения и впускным клапаном для азота. Сосуд продували при помощи азота и взвешивали и добавляли трет-бутоксид калия (MW 112,21, 75,4 ммоль, 8,46 г, 4,0 экв., белый порошок) в сосуд через насыпную воронку с последующим добавлением THF (60 мл). Большая часть трет-бутоксид калия растворялась с образованием мутного раствора. Указанную смесь охлаждали до 0-2°C (внутренняя температура) в ледяной бане. В отдельном сосуде исходный эфир (MW 265,3, 18,85 ммоль, 5,0 г, 1,0 экв.) растворяли в THF (18 мл+2 мл в качестве промывочного раствора) и переносили в воронку для внесения. Указанный раствор добавляли каплями к охлажденной смеси на протяжении периода 25-30 мин, при этом сохраняя в ходе добавления внутреннюю температуру ниже 5°C. Реакционную смесь обратно охлаждали до 0-2°C. В отдельном сосуде готовили раствор йодистого метила (MW 141,94, 47,13 ммоль, 6,7 г, 2,5 экв.) в THF (6 мл) и переносили в воронку для внесения. Сосуд, содержащий раствор йодистого метила, затем промывали THF (1,5 мл), который затем переносили в воронку для внесения, уже содержащую прозрачный бесцветный раствор йодистого метила в THF. Указанный раствор аккуратно добавляли по каплям в темно-коричневую реакционную смесь на протяжении периода 30-40 мин, сохраняя внутреннюю температуру ниже 10°C в течение всего времени добавления. После завершения добавления слегка мутную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч, на протяжении которого внутренняя температура падала до 0-5°C. После перемешивания в течение часа при 0-5°C реакционную смесь гасили посредством медленного добавления каплями 5,0 М водного HCl (8 мл) в течение 5-7 мин. Внутреннюю температуру необходимо было поддерживать на уровне 20°C в ходе такого добавления. После данного добавления добавляли воду (14 мл) и смесь перемешивали в течение 2-3 мин. Перемешивание останавливали и оставляли до разделения на 2 слоя. Затем 2 слоя переносили в 250 мл сосуд с 1 горлышком и закругленным дном, а THF выпаривали in vacuo настолько, насколько это возможно, с получением двухфазного слоя THF/продукт и воды. Оставляли до разделения на 2 слоя. Раствор THF смеси из 1 этапа применяли на следующем этапе.

Этап 2: гидролиз этилового эфира посредством моногидрата LiOH.



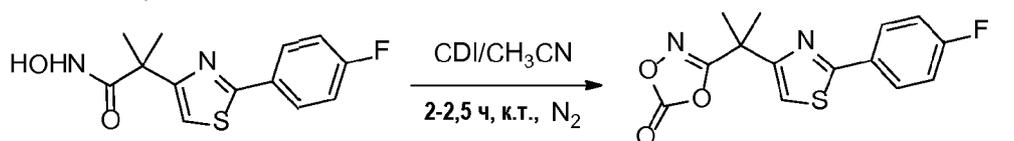
Процедура: неочищенный сложный эфир в THF добавляли в реакционный сосуд. Отдельно взвешивали LiOH·H₂O (MW 41,96, 75,0 ммоль, 3,15 грамм, 2,2 экв.) в 100 мл мерном стакане, в который добавляли магнитный элемент. Добавляли воду (40 мл) и смесь перемешивали до тех пор, пока не растворились твердые частицы, с получением прозрачного бесцветного раствора. Затем указанный жидкий раствор добавляли в 250 мл сосуд с закругленным дном, содержащий раствор сложного эфира в тетрагидрофуране (THF). К горлу сосуда прикрепляли холодильник, а к верхушке холодильника прикрепляли входной клапан для азота. Смесь нагревали до температуры возврата флегмы в течение 16 ч. Спустя 16 ч нагрев прекращали и жидкость охлаждали до комнатной температуры. THF выпаривали in vacuo с получением коричневого раствора. Аликвоту коричневого водного раствора анализировали посредством HPLC и LC/MS в отношении полного гидролиза сложного этилового эфира. Добавляли воду (15 мл) и указанный водный щелочной раствор экстрагировали посредством ТВМЕ (2×40 мл) для удаления сложного трет-бутилового эфира. Водный основной слой охлаждали в ледяной бане до 0-10°C и подкисляли до pH~1 путем добавления каплями концентрированной HCl с перемешиванием. К указанному смолисто-твердому веществу в водном кислом растворе добавляли ТВМЕ (60 мл) и смесь встряхивали, а затем интенсивно перемешивали до полного растворения кислоты в слое ТВМЕ. 2 слоя переносили в разделительную воронку и отделяли слой ТВМЕ. Бледно-желтый водный кислый раствор повторно экстрагировали посредством ТВМЕ (40 мл), а слой ТВМЕ отделяли и объединяли с предыдущим слоем ТВМЕ. Водный кислый слой отбрасывали. Объединенные слои ТВМЕ сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали in vacuo для удаления ТВМЕ и получения неочищенной кислоты в виде оранжевого/темно-желтого масла, которое затвердевало при высоком вакууме в твердое вещество грязно-желтого цвета. Неочищенную кислоту взвешивали и кристаллизовали посредством нагревания ее в гептане/ТВМЕ (3:1, 5 мл/г неочищенного вещества) с получением кислоты в виде твердого желтого вещества.

Этап 3: Получение гидроксамовой кислоты с помощью NH₂OH·HCl.



Процедура: карбоновую кислоту (MW 265,3, 18,85 ммоль, 5,0 г, 1,0 экв.) взвешивали и переносили в 25 мл сосуд с 1 горлом и закругленным дном в атмосфере азота. Добавляли THF (5,0 мл), и кислота полностью растворялась с образованием прозрачного раствора, имевшего цвет от темно-желтого до коричневого. Раствор охлаждали до 0-2°C (температура бани) в ледяной бане и медленно маленькими порциями добавляли N,N'-карбонилдиимидазол (CDI; MW 162,15, 20,74 ммоль, 3,36 г, 1,1 экв.) в течение 10-15 мин. Удаляли ледяную баню, а раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Спустя 1 ч перемешивания раствор снова охлаждали в ледяной бане до 0-2°C (температура бани). Хлоргидрат гидроксиламина (NH₂OH·HCl; MW 69,49, 37,7 ммоль, 2,62 г, 2,0 экв.) медленно добавляли маленькими порциями в виде твердого вещества на протяжении периода 3-5 мин, поскольку данное добавление было экзотермическим. По завершении добавления добавляли воду (1,0 мл) в гетерогенную смесь каплями на протяжении периода 2 мин и реакционную смесь перемешивали при 0-10°C в ледяной бане в течение 5 мин. Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение суток на протяжении 20-22 ч. Раствор становился прозрачным по мере растворения всего NH₂OH·HCl. После 20-22 ч аликвоту реакционной смеси анализировали посредством жидкостной хроматографии высокого давления (HPLC). THF затем выпаривали in vacuo, а остаток абсорбировали в дихлорметане (120 мл) и воде (60 мл). Смесь переносили в разделительную воронку, где ее встряхивали, и позволяли разделиться на 2 слоя. Водный слой отбрасывали, а слой с дихлорметаном промывали посредством 1н соляной кислоты (HCl; 60 мл). Слой с кислотой отбрасывали. Слой с дихлорметаном сушили над безводного Na₂SO₄, фильтровали, а растворитель выпаривали in vacuo с получением неочищенной гидроксамовой кислоты в виде бледно-желтого твердого вещества, которое сушили на протяжении ночи под высоким вакуумом.

Продолжение этапа 3: Превращение гидроксамовой кислоты в циклическое промежуточное соединение (без выделения).



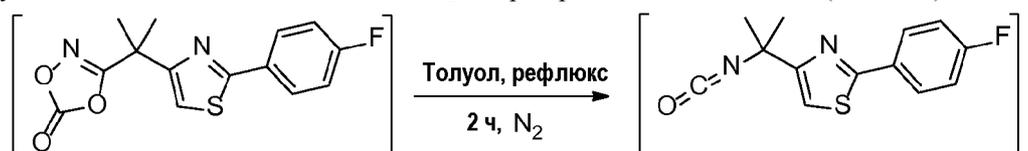
Химическая формула: $C_{13}H_{13}FN_2O_2S$
Точная масса: 280,07
Молекулярная масса: 280,32

Химическая формула: $C_{14}H_{11}FN_2O_3S$
Точная масса: 306,05
Молекулярная масса: 306,31

Процедура: неочищенную гидроксамовую кислоту (MW 280,32, 5,1 г) переносили в 250 мл сосуд с 1 горлом и закругленным дном, а также со входным клапаном для азота. Добавляли магнитный элемент с последующим добавлением ацетонитрила (50 мл). Твердое вещество не растворялось в ацетонитриле. Желтую гетерогенную смесь перемешивали в течение 2-3 мин в атмосфере азота и добавляли CDI (MW 162,15, 20,74 ммоль, 3,36 г, 1,1 экв.) одной порцией при комнатной температуре.

Экзотермический эффект не наблюдали. Твердое вещество моментально растворялось, и прозрачный желтый раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2-2,5 ч. По истечении 2-2,5 ч аликвоту анализировали посредством HPLC и LC/MS, которая показывала превращение гидроксамовой кислоты в необходимое циклическое промежуточное соединение.

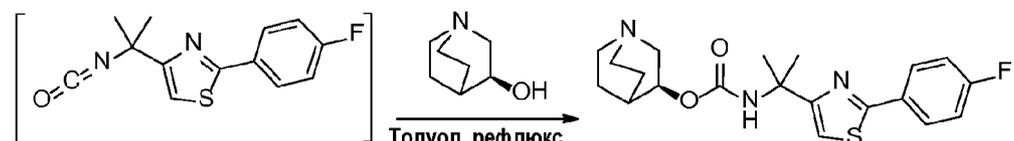
Ацетонитрил затем выпаривали *in vacuo* с получением неочищенного циклического промежуточного соединения в виде красноватого густого масла. Масло абсорбировали в толуоле (60 мл) и красноватую смесь кипятили в колбе с обратным холодильником в течение 2 ч, на протяжении которых циклическое промежуточное соединение высвобождало CO_2 и перестраивалось в изоцианат (см. ниже).



Химическая формула: $C_{14}H_{11}FN_2O_3S$
Точная масса: 306,05
Молекулярная масса: 306,31

Химическая формула: $C_{13}H_{11}FN_2OS$
Точная масса: 262,06
Молекулярная масса: 262,30

Продолжение этапа 3: превращение изоцианата в свободное основание.



Химическая формула: $C_{13}H_{11}FN_2OS$
Точная масса: 262,06
Молекулярная масса: 262,30

Химическая формула: $C_{20}H_{24}FN_3O_2S$
Точная масса: 389,16
Молекулярная масса: 389,49

Реакционную смесь охлаждали до 50-60°C и к смеси одной порцией добавляли (S)-(+)-хинуклидинол (MW 127,18, 28,28 ммоль, 3,6 г, 1,5 экв.) в виде твердого вещества. Смесь повторно нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 18 ч. После 18 ч аликвоту анализировали посредством HPLC и LC/MS, которое показывало полное превращение изоцианата в требуемое вещество. Реакционную смесь переносили в разделительную воронку и добавляли толуол (25 мл). Смесь промывали водой (2×40 мл) и разделяли водные слои. Объединенные водные слои повторно экстрагировали посредством толуола (30 мл) и отбрасывали водный слой. Объединенные слои с толуолом экстрагировали посредством 1н HCl (2×60 мл) и отбрасывали слой с толуолом (содержавший примесь O-ацила). Объединенные слои с HCl переносили в 500 мл коническую колбу Эрленмейера, снабженную магнитным элементом. Указанный перемешиваемый желтый/красновато-оранжевый раствор подщелачивали до уровня pH 10-12 посредством добавления каплями 50% вес./вес. водного NaOH. Требуемое свободное основание выпадало в осадок в виде грязно-желтого смолистого твердого вещества, которое могло задерживать магнитный элемент. В указанную смесь добавляли изопропил ацетат (100 мл) и смесь интенсивно перемешивали в течение 5 мин, пока смолистое твердое вещество не смешивалось с изопропилацетатом. Перемешивание останавливали и смеси позволяли разделиться на 2 слоя. Желтый слой изопропилацетата отделяли, а основной водный слой повторно экстрагировали посредством изопропилацетата (30 мл). Основной водный слой отбрасывали, а объединенные слои изопропилацетата сушили над безводным Na_2SO_4 , отфильтровывали в предварительно взвешенный сосуд с закругленным дном и растворитель выпаривали *in vacuo* с получением неочищенного свободного основания в виде твердого вещества, имевшего окрас от бежевого 37 до

желто-коричневого, которое сушили под высоким вакуумом в течение ночи.

Продолжение этапа 3: рекристаллизация неочищенного свободного основания.

Окрашенное в цвет от бежевого до желто-коричневого, неочищенное свободное основание взвешивали и рекристаллизовали из гептан/изопропилацетата (3:1, 9,0 мл растворителя/г неочищенного свободного основания). Подходящее количество гептан/изопропилацетата добавляли в неочищенное свободное основание вместе с магнитным элементом и смесь (свободное основание изначально могло лишь частично растворяться, а затем при нагревании в колбе с обратным холодильником растворялось с образованием прозрачного красновато-оранжевого раствора) нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 10 мин. Источник тепла удаляли и смеси позволяли охладиться до комнатной температуры при помешивании в случае формирования белого осадка. После перемешивания при комнатной температуре в течение 3-4 ч осадок отфильтровывали под вакуумом, создаваемым при помощи всасывающего шланга, с применением воронки Бюхнера, промывали гептаном (20 мл) и сушили на протяжении ночи под вакуумом, создаваемым при помощи всасывающего шланга, на воронке Бюхнера. Затем осадок переносили в кристаллизатор и сушили в вакуумной печи на протяжении ночи при 55°C. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,04-7,83 (м, 2H), 7,20-6,99 (м, 3H), 5,53 (с, 1H), 4,73-4,55 (м, 1H), 3,18 (дд, J=14,5, 8,4 Гц, 1H), 3,05-2,19 (м, 5H), 2,0-1,76 (м, 11H). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 166,38, 165,02, 162,54, 162,8-155,0 (d, C-F), 130,06, 128,43, 128,34, 116,01, 115,79, 112,46, 71,18, 55,70, 54,13, 47,42, 46,52, 27,94, 25,41, 24,67, 19,58.

Пример 2.

Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата.

Свободное основание (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамата (20 г) растворяли в IPA (140 мл) при комнатной температуре и отфильтровывали.

Фильтрат добавляли в 1 л сосуд с закругленным дном, который был оснащен верхнеприводной мешалкой и входным/выходным клапаном азота. L-оксиянтарную кислоту (6,89 г) растворяли в IPA (100+30 мл) при комнатной температуре и фильтровали. Фильтрат добавляли в сосуд с объемом более 1 л. Конечный раствор перемешивали при комнатной температуре (с или без затравливания) в атмосфере азота в течение 4-24 ч. На протяжении указанного периода времени образовывались кристаллы. Продукт собирали посредством фильтрации и промывали в малом количестве IPA (30 мл). Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 55°C в течение 72 ч (23 г, выход:). ¹H ЯМР CDCl₃

δ (мкГ/г)	расщепление	Целое	Обозначение
7,9	м	2	Ha
7,1	м	3	Hb, Hc
5,9	ушир. с	1	NH
4,9	м	1	Hd
4,2	м	1	Ha'
3,1-3,6	м	6	He
2,7	м	2	Hb'
1,6-2,4	м	11	Hf, (CH ₃) ₂

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей пик при угле 2-тета: 18,095.

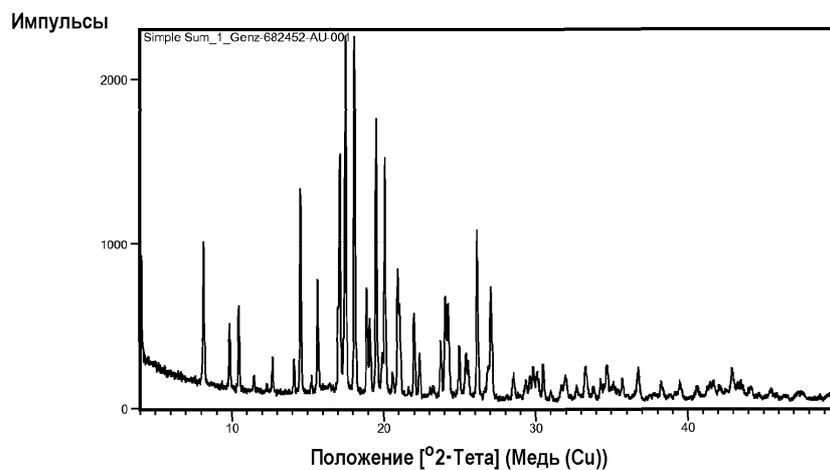
2. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата по п.1, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей следующие пики при угле 2-тета: 18,095 и 17,493.

3. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата по п.1, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей следующие пики при угле 2-тета: 18,095 и 19,516.

4. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата по любому из пп.1-3, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей следующие пики при угле 2-тета: 18,095, 17,493 и 19,516.

5. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата по любому из пп.1-4, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей следующие пики при угле 2-тета: 18,095, 17,493, 19,516 и 20,088.

6. Кристаллическая форма А (S)-хинуклидин-3-ил-(2-(2-(4-фторфенил)тиазол-4-ил)пропан-2-ил)карбамат-малата по любому из пп.1-5, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, измеренной посредством CuK_α излучения, содержащей следующие пики при угле 2-тета: 18,095, 17,493, 19,516, и 20,088, и 17,125.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2
