

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038941**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.12

(21) Номер заявки
201791981

(22) Дата подачи заявки
2008.11.04

(51) Int. Cl. **C07C 235/78** (2006.01)
C07C 317/28 (2006.01)
C07D 213/40 (2006.01)
C07D 223/04 (2006.01)
C07D 233/61 (2006.01)
C07D 295/02 (2006.01)
C07D 307/14 (2006.01)
C07D 295/192 (2006.01)
C07D 295/185 (2006.01)
C07D 207/27 (2006.01)
C07D 295/24 (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **ПРОИЗВОДНЫЕ 4-(п-ХИНОНИЛ)-2-ГИДРОКСИБУТАНАМИДА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(31) **61/002,126; 61/002,127**

(32) **2007.11.06**

(33) **US**

(43) **2018.01.31**

(62) **201000756; 2008.11.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ПиТиСи ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Янковски Орион Д., Вессон Кирон Е.,
Моллард Пол, Шрэдер Уильям Д. (US)**

(74) Представитель:
Трошина Л.Ю., Фелицына С.Б. (RU)

(56) EP-A-1454627

NIE ET AL.: "Enhanced radical scavenging activity by antioxidant-functionalized gold nanoparticles: A novel inspiration for development of new artificial antioxidants", FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE, ELSEVIER SCIENCE, vol. 43, no. 9, 21 September 2007 (2007-09-21), pages 1243-1254, XP022263703, ISSN: 0891-5849, see compound 7, page 1248, left-hand column, paragraph 3 - page 1249; figure 3

EP-A-0831092

WO-A-2007095630

WO-A-03016323

LUFT R.: "THE DEVELOPMENT OF MITOCHONDRIAL MEDICINE", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC; US, vol. 91, 1 September 1994 (1994-09-01), pages 8731-8738, XP002052331, ISSN: 0027-8424, the whole document

(57) Раскрыты способы лечения или подавления митохондриальных заболеваний, таких как атаксия Фридрейха (FRDA), наследственная оптическая нейропатия Лебера (LHON), митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактацидоз и инсульт (MELAS), синдром Кернса-Сэйра (KSS); а также соединения, применимые в способах настоящего изобретения, например производные 4-(п-хинонил)-2-гидроксибутанамида. Также раскрыты способы и соединения, применимые для лечения других нарушений, например бокового амиотрофического склероза (ALS), болезни Хантингтона, болезни Паркинсона и общего расстройства психологического развития, например аутизма. Также раскрыты энергетические биомаркеры, применимые для оценки метаболического состояния субъекта и эффективности лечения. Также раскрыты способы модулирования, нормализации или усиления энергетических биомаркеров, а также соединения, применимые для этих способов.

B1**038941****038941 B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Заявка раскрывает композиции и способы, используемые для лечения, предотвращения или подавления заболеваний, задержки в развитии и симптомов, связанных с митохондриальными расстройствами, например, атаксией Фридрайха, наследственной зрительной нейропатией Лебера, синдромом Кернса-Сэйра, митохондриальной миопатией, энцефалопатией, лактацидурией и инсультом, а также повреждением сосудов мозга и для модулирования биоэнергетических маркёров у субъекта. Композиции настоящего изобретения вводят субъекту для компенсации митохондриальной дисфункции и для улучшения митохондриальных функций. Раскрыты также способы и соединения, используемые для лечения других заболеваний, например бокового амиотрофического склероза (ALS), болезнью Хантингтона и Паркинсона.

Предшествующий уровень техники

Митохондрии представляют собой органеллы в эукариотических клетках, которые обычно рассматривают как "электростанцию" клетки. Одной из их основных функций является окислительное фосфорилирование. Молекула аденозинтрифосфата (АТФ) выполняет роль энергетической "валюты" или носителя энергии в клетке, и эукариотические клетки производят большую часть АТФ в результате биохимических процессов, проходящих в митохондриях. Эти биохимические процессы включают в себя цикл лимонной кислоты (цикл трикарбоновых кислот или цикл Кребса), который генерирует восстановленный никотинамидадениндинуклеотид ($\text{NADH} + \text{H}^+$) из окисленного никотинамидадениндинуклеотида NAD^+ , и окислительное фосфорилирование, в процессе которого $\text{NADH} + \text{H}^+$ обратно окисляется до NAD^+ . (Цикл лимонной кислоты также восстанавливает флавинадениндинуклеотид или FAD, в FADH_2 ; FADH_2 также участвует в окислительном фосфорилировании.)

Электроны, высвобождаемые при окислении $\text{NADH} + \text{H}^+$ двигаются по челночному типу вдоль ряда белковых комплексов (Комплекс I, Комплекс II, Комплекс III и Комплекс IV), известных как дыхательная цепь. Эти комплексы включены во внутреннюю мембрану митохондрии. Комплекс IV, находящийся на конце цепи, переносит электроны к кислороду, который восстанавливается до воды. Энергия, выделяемая при перемещении электронов в комплексах, используется для генерирования градиента протонов перпендикулярно внутренней мембране митохондрии, благодаря чему возникает электрохимический потенциал перпендикулярно внутренней мембране. Другой белковый комплекс, Комплекс V (который непосредственно не связан с Комплексами I, II, III и IV) использует энергию, запасаемую электрохимическим градиентом для превращения ADP в АТФ.

Цикл лимонной кислоты и окислительное фосфорилирование предшествуют гликолизу, в процессе которого молекула глюкозы расщепляется на две молекулы пирувата с результирующим образованием двух молекул АТФ на молекулу глюкозы. Затем молекулы пирувата входят в митохондрии, где они полностью окисляются до CO_2 и H_2O путём окислительного фосфорилирования (суммарный процесс известен как аэробное дыхание). Полное окисление двух молекул пирувата до диоксида углерода и воды приводит к образованию по меньшей мере приблизительно 28-29 молекул АТФ, дополнительно к 2 молекулам АТФ, образующихся при превращении глюкозы в две молекулы пирувата. Если кислород недоступен, молекула пирувата не входит в митохондрии, а скорее превращается в лактат в процессе анаэробного дыхания.

Таким образом, общий суммарный выход на молекулу глюкозы приблизительно равен по меньшей мере 30-31 молекулам АТФ. АТФ используют для усиления, прямо или косвенно, почти всех остальных биохимических реакций в клетке. Таким образом, дополнительные (приблизительно) по меньшей мере 28 или 29 молекул АТФ, образующиеся путём окислительного фосфорилирования при аэробном дыхании, критичны для правильного функционирования клетки. Отсутствие кислорода предотвращает аэробное дыхание и приводит к последующей гибели почти всех аэробных организмов; немногие организмы, например дрожжи, способны выживать как при аэробном, так и при анаэробном дыхании.

Когда клетки организма временно лишают кислорода, анаэробное дыхание используют до тех пор, пока кислород вновь не станет доступным или когда клетка погибает. Пируват, образующийся при гликолизе, превращается в лактат при анаэробном дыхании. Считают, что накопление молочной кислоты ответственно за мышечную усталость во время интенсивной активности, когда кислород не может быть доставлен к мышечным клеткам. Когда кислород вновь становится доступным, лактат вновь превращается в пируват для использования в окислительном фосфорилировании.

Митохондриальная дисфункция вносит вклад в различные состояния заболевания. Некоторые митохондриальные заболевания обусловлены мутациями или делецией в геноме митохондрий. Если пороговое содержание митохондрий в клетке дефектно, и если пороговая доля таких клеток в ткани имеет дефективные митохондрии, возникают симптомы дисфункции ткани или органа. Практически может быть поражена любая ткань, и может возникать целый ряд симптомов в зависимости от степени, в которой присутствуют различные ткани.

Одним из таких заболеваний является атаксия Фредрайха (FRDA или FA). Атаксия Фредрайха представляет собой аутосомальное рецессивное нейродегенеративное и кардиодегенеративное заболевание нарушение, вызванное пониженными уровнями белка фратаксина. Фратаксин важен для сборки железо-серных кластеров в комплексах митохондриальной дыхательной цепи. Прогноз распространённости

FRDA в США варьирует от 1 на каждые 22,000-29,000 человек (см. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001411.htm) до 1 на 50,000 человек (см. www.umc-cares.org/health_info/ADAM/Articles/001411.asp). Заболевание вызывает возрастающую потерю произвольной моторной координации (атаксию) и кардиотонические осложнения. Обычно симптомы появляются в детстве, и заболевание постепенно усугубляется по мере взросления пациента; пациенты со временем начинают передвигаться на колясках из-за недостатка двигательной способности.

Другим заболеванием, связанным с митохондриальной дисфункцией, является наследственная зрительная нейропатия Лебера (LHON). Это заболевание характеризуется слепотой, которая развивается в возрасте в среднем от 27 до 34 лет; слепота может проявиться в обоих глазах одновременно или последовательно (в одном глазу развивается слепота, после чего в среднем через два месяца в другом). Могут проявляться также и другие симптомы, например кардиотонические аномалии и неврологические осложнения.

Ещё одним изнуряющим симптомом, возникающим в связи с митохондриальными дефектами, является митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактацидоз и инсульт (MELAS). Заболевание может проявиться у младенцев, детей или подростков. Инсульты, сопровождающиеся рвотой и апopleксическими ударами, являются одним из наиболее серьёзных симптомов; установлено, что метаболическое поражение митохондрии в определённых участках мозга ответственно за гибель клетки и неврологические повреждения, скорее, чем ослабление потока крови, как это происходит при ишемическом инсульте. Часто присутствуют и другие серьёзные осложнения, включая неврологические симптомы, и наблюдается повышенный уровень молочной кислоты в крови.

Другим митохондриальным заболеванием является синдром Кернса-Сэйра (KSS). KSS характеризуется тремя признаками, включающими в себя: (1) типичные приступы у лиц моложе 20 лет; (2) хронический, нарастающий, наружный паралич глазных мышц и (3) пигментную дегенерацию сетчатки. Кроме того, KSS включают в себя дефекты в кардиотонической проводимости, церебеллярную атаксию и повышение уровня белков спинно-мозговой жидкости (CSF) (например, >100 мг/дл). Дополнительные признаки, связанные с KSS, могут включать в себя миопатию, дистонию, эндокринные нарушения (например, диабет, замедление роста или низкорослость и гипопаратиреоз), билатеральную нейросенсорную глухоту, слабоумие, катаракты и проксимальный почечный тубулярный ацидоз. Таким образом, KSS может оказывать влияние на многие системы организма.

Дефицит коэнзима Q10 представляет собой нарушение дыхательной цепи с такими синдромами, как миопатия с непереносимостью физической нагрузки и периодически повторяющимся миоглобином в моче, проявляющихся в атаксии, припадках или умственной отсталости и приводящих к почечной недостаточности (Di Mauro et al., (2005) *Neuromusc. Disord.*, 15:311-315), вспышке детской мозжечковой атаксии и мозжечковой атрофии (Masumeci et al., (2001) *Neurology* 56: 849-855 and Lamperti et al., (2003) 60:1206:1208); и детской энцефаломиопатии, связанной с нефрозом. Биохимическое исследование гомогенатов мышц пациентов с дефицитом коэнзима Q10 показало значительно сниженную активность комплексов I и II + III дыхательной цепи, в то время как активность комплекса IV (COX) снизилась умеренно (Gempel et al., (2007) *Brain*, 130(8): 2037-2044).

Дефицит комплекса I или дефицит NADH-дегидрогеназы NADH-CoQ-редуктазы являются нарушением дыхательной цепи с симптомами, классифицируемыми тремя основными видами: (1) летальным детским мультисистемным нарушением, характеризующимся задержкой в развитии, мышечной слабостью, сердечной недостаточностью, врождённым молочным ацидозом и нарушением дыхания; (2) миопатией, начинающейся в детстве или во взрослой жизни, проявляющейся в непереносимости физической нагрузки или в слабости; и (3) митохондриальной энцефаломиопатией (в том числе MELAS), которая может начинаться в детстве или во взрослой жизни и проявляться в виде различных комбинаций симптомов и признаков, в том числе офтальмоплегии, приступов, слабоумия, атаксии, пигментной ретинопатии, сенсорной невропатии и неконтролируемых движений.

Дефицит комплекса II или дефицит сукцинатдегидрогеназы представляет собой нарушение дыхательной цепи с симптомами, включающими энцефаломиопатию и различные проявления, в том числе неспособность к снижению прибавки массы тела и отставание в росте, задержку в развитии, гипотонию, заторможенность, нарушение дыхания, атаксию, миоклонус и лактацидоз.

Дефицит комплекса III или дефицит убихинон-цитохром C оксидоредуктазы представляет собой нарушение работы дыхательной цепи с симптомами отнесёнными к определённой категории в четырёх основных видах: (1) летальной детской энцефаломиопатии, врождённому молочному ацидозу, гипотонии, дистрофическому застыванию, припадках и коме; (2) энцефаломиопатии позднего начала болезни (от детского периода до взрослой жизни): различные комбинации проявления слабости, низкорослость, атаксия, слабоумие, сенсорная невропатия, пигментная дегенерация сетчатки и признаки пирамидальности; (3) миопатии, с непереносимостью физической нагрузки, развивающейся в постоянную слабость; и (4) врождённую гистиоцидоидную кардиомиопатию.

Дефицит комплекса IV или дефицит цитохром C оксидазы представляет собой нарушение работы дыхательной цепи с симптомами, отнесёнными к определённой категории в двух основных видах: (1) энцефаломиопатии, которая обычно является нормальной для первых 6-12 месяцев жизни, а затем про-

являет развивающуюся регрессию, атаксию, лактацидоз, атрофию зрительного нерва, офтальмоплегию, нистагм, дистонию, признаки пирамидальности, респираторные проблемы и частые приступы; и (2) миопатия в двух основных вариантах: (а) летальная детская миопатия может начаться вскоре после рождения и сопровождаться гипотонией, слабостью, лактацидозом, шероховато-красным волокном, расстройством дыхания и почечными проблемами; и (b) детская миопатия Benign может начаться вскоре после рождения и сопровождаться гипотонией, слабостью, лактацидозом, шероховато-красным волокном, проблемами с дыханием, но (если ребёнок выживает) с последующей самопроизвольной положительной динамикой.

Дефицит комплекса V или дефицит АТФ синтазы представляет собой нарушение работы дыхательной цепи, включая такие симптомы, как медленная развивающаяся миопатия.

СРЕО или синдром хронической развивающейся внешней офтальмоплегии представляет собой нарушение работы дыхательной цепи, включая такие симптомы, как визуальная миопатия, пигментная дистрофия сетчатки или дисфункция центральной нервной системы.

Помимо врождённых нарушений, включающих наследственные дефективные митохондрии, приобретённая митохондриальная дисфункция оказывает влияние на заболевания, особенно нейродегенеративные расстройства, особенно нейродегенеративные расстройства, связанные с возрастом, такие как болезнь Паркинсона, Альцгеймера и Хантингтона. Частота случаев соматических мутаций в митохондриальной ДНК растёт экспоненциально с возрастом; сниженную активность дыхательной цепи всегда обнаруживают у пожилых людей. Митохондриальная дисфункция также участвует в экситотоксическом, нейронном повреждении, повреждении сосудов мозга, например, связанном с апоплексическими ударами, инсультом и ишемией.

Оказалось, что вышеперечисленные заболевания вызваны дефектами в комплексе I дыхательной цепи. Перенос электронов от комплекса I к хвостовой части дыхательной цепи опосредован производным коэнзима Q (также известным как убихинон). Окисленный коэнзим Q (CoQ^{ox} или убихинон) восстанавливают комплексом I до восстановленного коэнзима Q (CoQ^{red} или убихинол). Затем восстановленный коэнзим Q переносит свои электроны к комплексу III дыхательной цепи (перескакивая через комплекс II), где он вновь окисляется до CoQ^{ox} (убихинон). Затем CoQ^{ox} может участвовать в дальнейших итерациях электронного переноса.

Для пациентов, страдающих этими заболеваниями, имеется очень мало методов лечения. Недавно было предложено соединение идебенон для лечения атаксии Фридрайха. Несмотря на то, что клинические эффекты идебенона являются относительно небольшими, осложнения митохондриальных заболеваний могут быть настолько серьёзными, что даже незначительно используемая терапия предпочтительнее нелеченому течению заболевания. Другое соединение, MitoQ, предложено для лечения митохондриальных нарушений (см. US Patent № 7179928); клинические результаты по MitoQ не опубликованы. Введение коэнзима Q10 (CoQ10) и добавки витаминов показали только временные благоприятные эффекты в отдельных случаях KSS.

Митохондриальная дисфункция также непосредственно связана с другими различными заболеваниями. В последних исследованиях сделано предположение, что до 20 процентов пациентов с аутизмом имеют маркёры митохондриальных заболеваний (Shoffher, J. the 60th Annual American Academy of Neurology meeting in Chicago, April 12-19, (2008); Poling, JS et al. J. child Neurol. 2008, 21(2) 170-2; and Rossignol et al., Am. J. Biochem. & Biotech. (2008) 4, 208-217). Некоторые случаи аутизма связаны с различными органическими условиями, в том числе с дефицитом биоэнергетического метаболизма; такое предположение было сделано благодаря обнаружению высокого уровня лактата у некоторых пациентов (Coleman M. et al., J. Autism and Lactic Acidosis, J. Autism Dev Disord., (1985) 15: 1-8; Laszlo et al. Serum serotonin, lactate and pyruvate levels in infantile autistic children, Clin. Chim. Acta (1994) 229: 205-207; and Chugani et al., Evidence of altered energy metabolism in autistic children, Progr. Neuropsychopharmacol Biol Psychiat, (1999) 23:635-641) и при использовании ядерного магнитного резонанса, а также томографического сканирования эмиссии позитрона, которые документально подтверждают аномалии в метаболизме мозга. Несмотря на то, что механизм гиперлактацидемии остаётся неизвестным, предполагаемая возможность включает в себя дисфункцию митохондриального окислительного фосфорилирования в нейронных клетках. Небольшое подмножество пациентов, страдающих аутизмом, с дефицитом комплекса I или III дыхательной цепи описаны в литературе (см. Oliveira G., Developmental Medicine & Child Neurology (2005) 47 185-189; and Filipek, PA et al., Journal of Autism and Developmental Disorders (2004) 34:615-623). Однако во многих случаях аутизма, когда имеются некоторые признаки митохондриальной дисфункции, отсутствуют классические признаки, связанные с митохондриальным заболеванием, например с митохондриальной патологией в мышечной биопсии (см. Rossignol D. A. et al., Am J. Biochem. & Biotech., (2008) 4 (2) 208-217).

Недавно Hayashi et al. (Science Express, опубликованный онлайн 3 April 2008: DOI: 10.1126/science.1156906, and Ishikawa et al., Science (2 May 2008) 320 (5876) 661-664) показали, что мутации митохондриальной ДНК могут оказывать влияние на развитие опухоли увеличением метастатического потенциала опухолевых клеток.

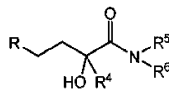
Способность производить корректировку биологического накопления энергии имеет применение и

за пределами заболеваний, описанных выше. Различные другие нарушения могут привести к субоптимальным уровням энергетических биомаркеров (иногда также рассматриваемые как индикаторы энергетической функции), например, такие как уровни АТФ. Необходимо также лечение этих заболеваний для того, чтобы регулировать действие одного или нескольких энергетических биомаркеров для улучшения здоровья пациентов. В других применениях желательно модулировать действие некоторых биомаркеров до значений, далеких от их обычных значений у индивидуумов, не страдающих этим заболеванием. Например, если индивидуум подвергают чрезвычайно энергичному лечению, желательно повысить уровень АТФ у этого индивидуума.

Соответственно, соединения для лечения митохондриального заболевания и/или регулирования биологического накопления энергии имеют широкий спектр практического применения.

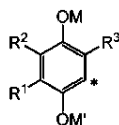
Сущность изобретения

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает в себя соединения формулы I



Формула I,

где R представляет собой



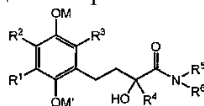
где * указывает на точку присоединения R к остальной молекуле;

R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метил;

R^5 и R^6 , каждый, представляет собой водород;

M и M' представляют собой водород и его соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя соединения формулы Ib



Формула Ib

R^1 , R^2 , и R^3 , R^4 представляют собой метил;

R^5 и R^6 представляют собой водород;

M и M' представляют собой водород;

и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя соединения формулы Ib, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метилы и M и M' представляют собой водород или ацетил, и соль, стереоизомер или смесь стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя способ лечения или подавления митохондриальных заболеваний, модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров, нормализации модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров или усиления модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров введением терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений формулы I или формулы Ib; или объединения соединений формулы I или формулы Ib; и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя способ лечения или подавления митохондриальных заболеваний, модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров, нормализации одного или нескольких энергетических биомаркеров или усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров введением терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений формулы Ib, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метил; и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя способ лечения или подавления митохондриальных заболеваний, модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров, нормализации одного или нескольких энергетических биомаркеров или усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров введением терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений формулы Ib, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метил и R^4 имеет (R) конфигурацию; и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя способ лечения или подавления митохондриальных заболеваний, модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров, нормализации одного или нескольких энергетических биомаркеров или усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров введением терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений формулы Ib, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метил и где R^4 имеет (S)

конфигурацию; и и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя гидрохинонную форму соединения формулы I, выбранного из

(R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида;

(S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида;

и все их соли, стереоизомеры, смеси стереоизомеров.

В других вариантах осуществления, в том числе любых из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение выбрано из группы, состоящей из наследственных митохондриальных заболеваний; миоклонической эпилепсии с разорванными красными волокнами (MERRF); митохондриальной миопатии, энцефалопатии, лактацидоза и инсульта (MELAS); наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON); болезни Лейха; синдрома Кернса-Сэйра (KSS); атаксии Фридрайха (FA); других миопатий; кардиомиопатии; энцефаломиопатии; почечного канальцевого ацидоза; нейродегенеративных заболеваний; болезни Паркинсона; болезни Альцгеймера; бокового амиотрофического склероза (ALS); заболеваний мотонейрона; других неврологических заболеваний; эпилепсии; генетических болезней; болезни Хантингтона; аффективных расстройств; шизофрении; биполярного расстройства; возрастных заболеваний; нарушений мозгового кровообращения, дегенерации желтого пятна; диабета и рака.

В другом варианте осуществления, в том числе любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является нарушением митохондриальной дыхательной цепи. В конкретном варианте осуществления нарушение митохондриальной дыхательной цепи представляет собой нарушение белковой дыхательной цепи. В другом конкретном варианте осуществления нарушение обусловлено дефицитом CoQ10.

В другом варианте осуществления, в том числе любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение выбрано из группы, состоящей из группы наследственных митохондриальных заболеваний; миоклонической эпилепсии с разорванными красными волокнами (MERRF); митохондриальной миопатии, энцефалопатии, лактацидоза и инсульта (MELAS); наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON); болезни Лейха; синдрома Кернса-Сэйра (KSS); атаксии Фридрайха (FA).

В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является атаксией Фридрайха (FA). В другом варианте осуществления митохондриальное нарушение является наследственной оптической нейропатией Лебера (LHON). В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является митохондриальной миопатией, энцефалопатией, лактацидозом и инсультом (MELAS). В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является синдромом Кернса-Сэйра (KSS). В другом варианте осуществления митохондриальное нарушение является миоклонической эпилепсией с разорванными красными волокнами (MERRF). В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является болезнью Паркинсона. В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является болезнью Хантингтона. В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, митохондриальное нарушение является боковым амиотрофическим склерозом (ALS). В ещё одном варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, нарушения являются нарушениями мозгового кровообращения, например инсультом.

В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, соединения, описанные здесь, вводят субъектам, страдающим митохондриальным нарушением, для модулирования одного или нескольких различных энергетических биомаркеров, включающих в себя, но не ограниченных уровнем молочной кислоты (лактата), как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в мозговой желудочковой жидкости; уровнем пировиноградной кислоты (пирувата), как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в мозговой желудочковой жидкости; соотношением лактат/пируват, как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в мозговой желудочковой жидкости; уровнем фосфокреатина, уровнем NADH (NADH + H⁺) или NADPH (NADPH + H⁺); уровнем NAD или NADP; уровнем АТФ; уровнем восстановленного коэнзима Q (CoQ^{red}); уровнем окисленного коэнзима Q (CoQ^{ox}); уровнем общего коэнзима Q (CoQ^{tot}); уровнем окисленного цитохрома C; уровнем восстановленного цитохрома C; соотношением окисленный цитохром C/восстановленный цитохром C; уровнем ацетоацетата; уровнем β-гидроксибутирата; соотношением ацетоацетат/β-гидроксибутират; уровнем 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG); уровнем активных форм кислорода; поглощением кислорода (V_{O2}), выходом диоксида углерода (V_{CO2}), респираторным коэффициентом (V_{CO2}/V_{O2}) и для модулирования непереносимости физической нагрузки (или, наоборот, для модулирования выносливости к физической нагрузке) и для модулирования анаэробного порога. Энергетические биомаркеры могут быть определены во всём объёме крови, плазме, спинномозговой

жидкости, спинножелудочковой жидкости, артериальной крови, венозной крови или любой другой жидкости в организме, газа в организме или в другом биологическом образце, применимом для такого измерения. В одном из вариантов осуществления уровни меняют до значения в пределах приблизительно 2 стандартных отклонений от величины, характерной для здорового субъекта. В другом варианте осуществления уровни меняют до значения в пределах приблизительно 1 стандартного отклонения от величины, характерной для здорового субъекта. В другом варианте осуществления уровни в субъекте меняют по меньшей мере приблизительно на 10% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 20% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 30% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 40% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 50% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 75% выше или ниже уровня в субъекте перед модуляцией. В другом варианте осуществления уровни меняют по меньшей мере приблизительно на 90% выше или приблизительно на 90% ниже уровня в субъекте перед модуляцией.

В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления, соединения, описанные здесь, вводят субъектам, страдающим общим расстройством психологического развития, выбранным из аутистических заболеваний, нарушения Аспергера, детского дезинтегративного заболевания (CDD), болезни Ретта и общего расстройства психологического развития - иначе не указанного (PDD-NOS). В другом варианте осуществления заболевание является аутистическим заболеванием.

В другом варианте осуществления, в том числе в любом из вышеописанных вариантов осуществления субъект или субъекты, в отношении которых осуществляют способ лечения или подавления митохондриального нарушения, модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров, нормализации одного или нескольких энергетических биомаркеров, или усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров, выбран из группы, состоящей из субъектов, подвергающихся сильной или продолжительной физической активности, субъектов с хроническими энергетическими проблемами; субъектов с хроническими респираторными проблемами; беременных женщин; беременных женщин в родильном отделении; новорожденных; недоношенных детей; субъектов, находящихся в чрезвычайных обстоятельствах, субъектов, находящихся в жарком климате; субъектов, находящихся в холодном климате; субъектов, находящихся в условиях с содержанием кислорода ниже средней величины, субъектов, находящихся в условиях с содержанием диоксида углерода выше средней величины; субъектов, находящихся в условиях с содержанием кислорода ниже средней величины, субъектов, находящихся в условиях с загрязнением атмосферного воздуха выше среднего уровня; пассажиров самолётов; бортпроводников; субъектов, находящихся в высокогорных условиях; субъектов, проживающих в городах с качеством воздуха ниже среднего уровня; субъектов, работающих в закрытых помещениях с ухудшенным качеством воздуха; субъектов с лёгочными заболеваниями; субъектов с более низким по сравнению со средним уровнем объёмом лёгких; туберкулёзных пациентов; пациентов с раком лёгких; пациентов с эмфиземой лёгких; пациентов с кистозным фиброзом; субъектов, восстанавливающихся после операции; выздоравливающих субъектов; престарелых субъектов; пожилых субъектов, испытывающих пониженную энергию; субъектов, страдающих хронической усталостью; субъектов, страдающих синдромом хронической усталости; субъектов, испытывающих острую травму; субъектов в шоке; субъектов, нуждающихся в неотложном введении кислорода; субъектов, нуждающихся в постоянном введении кислорода или других субъектов с острой, хронической или постоянной потребностью в энергии, которые могут получать пользу от усиления энергетических биомаркёров.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя одно или несколько соединений формулы I или Ib в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, носителем или транспортным средством.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя применение одного или нескольких соединений формулы I или Ib для лечения митохондриальных заболеваний. В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает в себя применение одного или нескольких соединений формулы I, Ia или Ib для изготовления медикаментов для применения в лечении митохондриальных заболеваний.

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Настоящее изобретение включает в себя соединения, применимые для лечения или подавления митохондриальных нарушений, и способы применения таких соединений для модулирования энергетических биомаркеров. Здесь описаны более подробно редокс-активные лекарства для лечения или подавления митохондриальных заболеваний и связанные с ними аспекты настоящего изобретения.

Под "субъектом", "индивидуумом" или "пациентом" подразумевают индивидуальный организм, предпочтительно высокоорганизованный, более предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно человек.

"Лечение" заболевания соединениями и способами, обсуждаемыми здесь, описывается как введение одного или нескольких соединений, обсуждаемых здесь, совместно или без дополнительных терапевтических агентов, чтобы излечить или устранить либо заболевание, либо один или несколько симптомов заболевания, или замедлить прогрессирование заболевания или одного, или нескольких симптомов заболевания, или уменьшить тяжесть заболевания или одного или нескольких симптомов заболевания. "Подавление" заболевания соединениями и способами, обсуждаемыми здесь, описывается как введение одного или нескольких соединений, обсуждаемых здесь, совместно или без дополнительных терапевтических агентов, чтобы подавить клиническое проявление заболевания, или подавить проявление неблагоприятных симптомов заболевания. Различие между лечением и подавлением состоит в том, что лечение производят после того, как у субъекта проявляются неблагоприятные симптомы заболевания, в то время как подавление производят перед тем, как у субъекта проявляются неблагоприятные симптомы заболевания. Подавление может быть частичным, в значительной степени общим или общим. Поскольку многие митохондриальные заболевания являются наследственными, для идентификации пациентов при риске заболевания может быть использован генетический скрининг. Соединения и способы настоящего изобретения могут быть применены в отношении бессимптомных пациентов при риске развития клинических симптомов заболевания для предотвращения появления каких-либо неблагоприятных симптомов. "Терапевтическое применение" соединений, обсуждаемых здесь, описывается как применение одного или нескольких соединений, обсуждаемых здесь, для лечения или подавления заболевания, как описано выше. "Эффективное количество" соединения - это количество соединения, достаточное для модулирования, нормализации или усиления одного, или нескольких энергетических биомаркеров (где модулирование, нормализация или усиление определены ниже). "Терапевтически эффективное количество" соединения - это количество соединения, введения которого в субъект достаточно для снижения или ликвидации или заболевания, или одного или нескольких симптомов заболевания, или замедления прогрессирования заболевания или одного или нескольких симптомов заболевания, или уменьшения тяжести заболевания или одного или нескольких симптомов заболевания, или подавления клинического проявления заболевания, или подавления неблагоприятных симптомов заболевания. Терапевтически эффективное количество может быть дано в одном или нескольких введениях. "Эффективное количество" соединения включают в себя как терапевтически эффективное количество, так и количество, эффективное для модулирования, нормализации или усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров в субъекте.

"Модулирование" или "модулировать" энергетические биомаркеры обозначает изменение уровня энергетического биомаркера до желаемой величины или изменение уровня энергетического биомаркера в нужном направлении (например, в сторону увеличения или уменьшения). Модулирование может включать в себя, но не ограничиваться нормализацией и усилением, как определено ниже.

"Нормализация" или "нормализовать" энергетический биомаркер обозначает изменение уровня энергетического биомаркера от патологического значения до нормального значения, когда нормальное значение энергетического биомаркера может быть 1) уровнем энергетического биомаркера у здоровой персоны или субъекта или 2) уровнем энергетического биомаркера, который частично снимает один или несколько нежелательных симптомов у персоны или субъекта. То есть, нормализовать энергетический биомаркер, подавленный на стадии заболевания, означает повысить уровень энергетического биомаркера в сторону нормального (здорового) значения, или в сторону значения, которое частично снимает нежелательный симптом; нормализовать энергетический биомаркер, который повышен на стадии заболевания, означает снизить уровень энергетического биомаркера в сторону нормального (здорового) значения или в сторону значения, которое частично снимает нежелательный симптом.

"Усиление" или "усиливать" энергетические биомаркеры означает специально изменять уровень одного или нескольких энергетических биомаркеров в сторону как от нормального значения, так и от значения, предшествующего усилению, для достижения благоприятного или желаемого эффекта. Например, в случае, когда субъекту требуется придать значительную энергию, желательно повысить уровень АТФ у этого субъекта выше нормального уровня АТФ у этого субъекта. Усиление может также оказать благоприятный эффект на субъект, страдающий от заболеваний и патологии, например митохондриального заболевания, при котором нормализацией энергетического биомаркера не может быть достигнут оптимальный результат для субъекта; в таких случаях, усиление одного или нескольких энергетических биомаркеров может быть благоприятным, например более высокий по сравнению с нормальными уровнями АТФ или для такого субъекта может быть благоприятным более низкий по сравнению с нормальными уровнями молочной кислоты (лактата).

Модулирование, нормализация или усиление энергетического биомаркера Коэнзима Q означает модулирование, нормализацию или усиление варианта или вариантов Коэнзима Q, являющегося доминирующим в представляющих интерес видовых признаках. Например, доминирующим вариантом Коэнзима Q в человеке является Коэнзим Q10. Если вид или субъект имеет более одного варианта Коэнзима Q, присутствующего в значительных количествах (т.е., присутствующего в количествах, которые при модулировании, нормализации или усилении могут оказывать благоприятное действие на вид или субъект), модулирование, нормализация или усиление Коэнзима Q может относиться к модулированию, нормализации или усилению любого или всех вариантов Коэнзима Q, присутствующих в этом виде или

субъекте.

В то время как соединения, описанные здесь, могут встречаться и применяться как нейтральные (несолевые) соединения, перед описанием ставится цель включить все соли соединений, описанных здесь, так же, как и способы, в которых используются такие соли соединений. В одном из вариантов осуществления соли соединений содержат фармацевтически приемлемые соли. Фармацевтически приемлемые соли представляют собой такие соли, которые могут быть введены в качестве лекарств или лекарственных препаратов людям и/или животным и которые при введении сохраняют по меньшей мере частично биологическую активность свободного соединения (нейтрального соединения или несолевого соединения). Желаемая соль основного соединения может быть получена способами, известными специалистам в данной области, обработкой соединения кислотой. Примеры неорганических кислот включают в себя, но не ограничены хлористоводородной кислотой, бромистоводородной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой и фосфорной кислотой. Примеры органических кислот включают в себя, но не ограничены муравьиной кислотой, уксусной кислотой, пропионовой кислотой, гликолевой кислотой, пировиноградной кислотой, щавелевой кислотой, малеиновой кислотой, малоновой кислотой, янтарной кислотой, фумаровой кислотой, винной кислотой, лимонной кислотой, бензойной кислотой, коричной кислотой, миндальной кислотой, сульфоновыми кислотами и салициловой кислотой. Соли основных соединений с аминокислотами, например, соли аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты могут быть также получены. Нужная соль кислого соединения может быть получена способами, известными специалистам в данной области техники, обработкой соединения основанием. Примеры неорганических солей кислых соединений включают в себя, но не ограничены солями щелочных металлов и солями щелочно-земельных металлов, например, солями натрия, солями калия, солями магния и солями кальция; солями аммония; и солями алюминия. Примеры органических солей кислых соединений включают в себя, но не ограничены солями прокаина, дибензиламина, N-этилпиперидина, N,N-дибензилэтилендиамин и триэтиламина. Соли кислых соединений с аминокислотами, например, соли соли лизина, могут быть также получены. Аддитивные соли, особенно применимые для фармацевтических препаратов, описаны в статье Berge S. M. et al., "Фармацевтические соли," J. Pharm. Sci. 1977 Jan; 66(1): 1-19.

Изобретение также включает в себя все стереоизомеры соединений, в том числе диастереомеры и энантиомеры. Изобретение также включает смеси стереоизомеров в любых соотношениях, в том числе, но не ограничивается рацемическими смесями. Несмотря на то, что стереохимия однозначно свидетельствует о структуре, структура предположительно включает в себя все возможные стереоизомеры изображённой структуры. Если стереохимия однозначно указывает на одну часть или части молекулы, но не на другую часть или части молекулы, структура предположительно включает в себя все возможные стереоизомеры для части или частей, которые стереохимия не может однозначно описать.

В целях изобретения соединения формулы I и все другие соединения, раскрытые здесь, как в общем, так и конкретно, включают в себя производные, в которых один или несколько атомов водорода замещены на изотоп водорода, например, на дейтерий.

Предположительно, "C₁-C₆-алкил" включает насыщенные линейные, разветвлённые, циклические углеводороды, содержащие 1-6 атомов углерода или их комбинации. Примерами "C₁-C₆-алкила" являются метил, этил, н-пропил, изопропил, циклопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, циклобутил, циклопропилметил, метилциклопропил, пентил, где точка присоединения пентильной группы к остатку молекулы может находиться в любом месте пентильного фрагмента, циклопентил, гексил, где точка присоединения гексильной группы к остатку молекулы может находиться в любом месте пентильного фрагмента, и циклогексил.

"Галоген" или "гало" обозначает фтор, хлор, бром и иод.

"C₁-C₆-галоалкил" предположительно включает в себя любой C₁-C₆-алкильный заместитель, имеющий по меньшей мере один галогенный заместитель; галоген может быть присоединён валентной связью в любом месте C₁-C₆-алкильной группы. Несколько примеров C₁-C₆-галоалкила представляют собой -CF₃, -CCl₃, -CHF₂, -CHCl₂, -CHBr₂, -CH₂F, -CH₂Cl.

Термин "арил" предположительно включает в себя ароматические циклические углеводородные группы, содержащие от 6 до 20 атомов углерода, образующих один цикл (например, фенил) или множество конденсированных (слитых) циклов (например, нафтил или антрил).

Термин "болезнь Фридрайха" предположительно включает в себя и другие атаксии и также иногда относится к наследственной атаксии, семейной атаксии или сухотки Фридрайха.

Термины "гетероцикл", "гетероциклический", "гетероцикло" и "гетероциклил" предположительно включают в себя моновалентный, насыщенный или частично ненасыщенный карбоциклический радикал, содержащий один или несколько циклов, имеющих один, два, три или четыре гетероатома в цикле (выбранных из азота, кислорода и/или серы). Примеры гетероциклов включают в себя морфолин, пиперидин, пиперазин, тиазолидин, пирозолидин, пиразолин, имидазолин, пирролидин, тетрагидропиран, тетрагидрофуран, хинукледин и т.п.

Термины "гетероарил", предположительно включает в себя моновалентный, ароматический, карбоциклический радикал, содержащий один или несколько циклов, включающих один, два, три или четыре гетероатома в цикле (выбранных из азота, кислорода и/или серы). Примеры гетероариллов включают в

себя пиридин, пиразин, имидазолин, тиазол, изотиазол, пиразин, триазин, пиримидин, пиридазин, пирозол, тиофен, пиррол, пиран, фуран, индол, хинолин, хиназолин, бензимидазол, бензотиофен, бензофуран, бензоксазол, бензотиазол, бензотриазол, имидазопиридины, пиразолопиридины, пиразоло-пиразин, акридин, карбазол и т.п.

Термин "болезнь Паркинсона", (также называемый "Паркинсонизм" и "синдром Паркинсона") ("PD") предположительно включает в себя не только болезнь Паркинсона, но также вызванный действием лекарств Паркинсонизм и постэнцефалитный Паркинсонизм. Болезнь Паркинсона также известна как дрожательный паралич или дрожательный парез. Она характеризуется тремором, мышечной ригидностью и потерей постуральных рефлексов. Заболевание обычно медленно развивается с интервалами от 10 до 20 лет, протекая прежде, чем симптомы приведут к нетрудоспособности. Благодаря мимикрии проявлений болезни Паркинсона лечение животных метамфетамином или МРТР используют для создания моделей болезни Паркинсона. Такие модели на животных используют для оценки эффективности различных видов терапии болезни Паркинсона.

Заболевания, подверженные лечению или подавлению соединениями и способы настоящего изобретения

Считают, что ряд заболеваний обусловлен или усилен из-за митохондриальных нарушений и замедления энергетического процессинга и может вылечиваться или подавляться при использовании соединений и способов настоящего изобретения. Такие заболевания включают в себя, но не ограничиваются наследственными митохондриальными заболеваниями, например миоклонической эпилепсией с разорванными красными волокнами (MERRF), митохондриальной миопатией, энцефалопатией, лактацидозом и инсультом (MELAS), наследственной оптической нейропатией Лебера (LHON, также называемой болезнью Лебера, оптической атрофией Лебера (LOA) или оптической нейропатией Лебера (LON), болезнью Лейха или синдромом Лейха, синдромом Кернса-Сэйра (KSS), атаксией Фридрайха (FA), другими миопатиями (в том числе кардиомиопатией и энцефаломиопатией), почечным канальцевым ацидозом, нейродегенеративными заболеваниями; болезнью Паркинсона; болезнью Альцгеймера; боковым амиотрофическим склерозом (ALS, также известным как болезнь Лоу Герига); заболеваниями мотонейрона; другими неврологическими заболеваниями, такими как эпилепсия; генетическими заболеваниями, например, болезнью Хантингтона (которая также является неврологическим заболеванием); аффективными расстройствами, например шизофренией и биполярным расстройством; нарушением мозгового кровообращения, например инсультом и некоторыми возрастными заболеваниями, особенно заболеваниями, при которых для лечения предложен CoQ10, например дегенерация желтого пятна, диабет и рак. Митохондриальная дисфункция также участвует в экситотоксическом, нейронном повреждении, повреждении сосудов мозга, например, связанном с апоплексическими ударами, инсультом и ишемией. Митохондриальная дисфункция также имеет отношение к некоторым пациентам, страдающим заболеваниями, связанными с общим расстройством развития, wybranными из аутистических заболеваний, нарушения Аспергера, детского дезинтегративного заболевания (CDD), болезни Ретта и общего расстройства психологического развития - иначе не указанного (PDD-NOS) и тех нарушений, которые также лечат или подавляют использованием соединений и способов настоящего изобретения.

Клиническая оценка митохондриальной дисфункции и эффективности терапии

Для оценки метаболического состояния пациентов с митохондриальными нарушениями используют несколько легко поддающихся измерению клинических маркеров. Такие маркеры также могут быть использованы в качестве индикаторов эффективности данной терапии, поскольку уровень маркеров перемещается от патологического значения, соответствующего патологическому состоянию, до значения, соответствующего здоровому состоянию. Такие клинические маркеры включают в себя, но не ограничены одним или несколькими ранее описанными энергетическими биомаркерами, например, уровнем молочной кислоты (лактата), как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в церебральной желудочковой жидкости; уровнем пировиноградной кислоты (пирувата), как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в церебральной желудочковой жидкости; соотношениями лактат/пируват, как во всём объёме крови, плазме, спинномозговой жидкости, так и в церебральной желудочковой жидкости; уровнями фосфокреатина, уровнями NADH (NADH +H⁺) или NADPH (NADPH+H⁺); уровнями NAD или NADP; уровнем АТФ; анаэробным порогом; уровнем восстановленного коэнзима Q (CoQ^{red}); уровнем окисленного коэнзима Q (CoQ^{ox}); общим уровнем коэнзима Q (CoQ^{tot}); уровнем окисленного цитохрома C; уровнем восстановленного цитохрома C; соотношением окисленный цитохром C/восстановленный цитохром C; уровнем ацетоацетата, уровнем β-гидроксипирувата, соотношением ацетоацетат/β-гидроксипируват, уровнем 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG); уровнем форм реакционноспособного кислорода и уровнем поглощения кислорода (VO₂), уровнем выделения диоксида углерода (VCO₂) и дыхательным коэффициентом (VCO₂/VO₂). Некоторые из этих клинических маркеров определяют по стандартной методике в научных физиологических лабораториях и обеспечивают подходящую оценку метаболического состояния субъекта. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения уровень одного или нескольких энергетических биомаркеров у пациентов, страдающих митохондриальными заболеваниями, например, атаксией Фридрайха, наследственной оптической нейропатией Лебера, MELAS или KSS улучшается в пределах двух стандартных отклонений от среднего

уровня у здоровых субъектов. Непереносимость физической нагрузки может быть также использована в качестве индикатора эффективности данной терапии, поскольку улучшение в переносимости физической нагрузки (т. е., уменьшение непереносимости физической нагрузки) указывает на эффективность данной терапии.

Некоторые метаболические биомаркеры были уже использованы для оценки эффективности CoQ10, и за такими метаболическими биомаркерами может осуществляться контроль как за энергетическими биомаркерами для использования в способах настоящего изобретения. Пируват, продукт анаэробного метаболизма глюкозы, удаляют восстановлением до молочной кислоты в анаэробных условиях или при окислительном метаболизме, который зависит от функциональной митохондриальной дыхательной цепи. Дисфункция дыхательной цепи может привести к неадекватному выведению лактата и пирувата из циркуляции и наблюдаются повышенные соотношения лактат/пируват в митохондриальных цитопатиях (смотри Scriver CR, *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 7th ed., New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; and Munnich et al., *J. Inherit. Metab. Dis.* 15(4):448-55 (1992)). Следовательно, соотношение лактата/пирувата в крови (Chariot et al., *Arch. Pathol. Lab. Med.* 118(7):695-7 (1994)) широко используют в качестве неинвазивного теста для определения митохондриальных цитопатий (смотри опять Scriver CR, *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 7th ed., New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; и Munnich et al., *J. Inherit. Metab. Dis.* 15(4):448-55 (1992)) и токсических митохондриальных миопатий (Chariot et al., *Arthritis Rheum.* 37(4):583-6 (1994)). Изменения в редокс-состоянии митохондрии печени могут быть исследованы измерением артериального соотношения кетонных тел (ацетоацетат/p-гидроксипируват: АКБР) (Ueda et al., *J. Cardiol.* 29(2):95-102 (1997)). Почечную экскрецию 8 гидроксидезоксигуанозина (8-OHdG) часто используют в качестве биомаркера для оценки степени восстановления ROS-индуцированного повреждения ДНК как в клинических, так и в производственных ситуациях (Erhola et al., *FEBS Lett.* 409(2):287-91 (1997); Honda et al., *Leuk. Res.* 24(6): 461-8 (2000); Pilger et al., *Free Radic. Res.* 35(3): 273-80 (2001); Kim et al. *Environ Health Perspect* 112(6): 666-71 (2004)).

Магнитно-резонансная спектроскопия (MRS) применима для диагностики митохондриальной цитопатии путём демонстрации увеличения спинномозговой жидкости (CSF) и лактата кортикального белого вещества при использовании протонного MRS (1H-MRS) (Kaufmann et al., *Neurology* 62(8): 1297-302 (2004)). Фосфорный MRS (31P-MRS) используют для демонстрации низких уровней кортикального фосфокреатина (PCr) (Matthews et al., *Ann. Neurol.* 29(4):435-8 (1991)), и замедления кинетики восстановления PCr в скелетных мышцах при последующей тренировке (Matthews et al., *Ann. Neurol.* 29(4): 435-8 (1991); Barbiroli et al., *J. Neurol.* 242(7): 472-7 (1995); Fabrizi et al., *J. Neurol. Sci.* 137(1): 20-7 (1996)). Низкий PCr скелетных мышц подтверждён у пациентов с митохондриальной цитопатией прямыми биохимическими измерениями.

Особенно полезна в качестве оценки и средства для тестирования при митохондриальной цитопатии нагрузочная проба. Одним из отличительных признаков, характеризующих митохондриальные миопатии, является максимальное восстановление поглощения кислорода всем телом (V02max) (Taivassalo et al., *Brain* 126 (Pt 2): 413-23 (2003)). Учитывая, что V02max определяется разностью в систолическом объёме крови (Qc) и экстрагированием периферического кислорода (общего артериально-венозного содержания кислорода), некоторые митохондриальные цитопатии оказывают влияние на сердечную функцию, где снабжение может изменяться; однако большая часть митохондриальных цитопатий проявляет характерный дефицит периферического экстрагирования кислорода (A-V O2 разность) и повышенного снабжения кислородом (гиперкинетическая циркуляция) (Taivassalo et al., *Brain* 126 (Pt 2): 413-23 (2003)). Это может проявляться в отсутствии дезоксигенации венозной крови, индуцируемой физической нагрузкой, прямыми измерениями равновесия AV (Taivassalo et al., *Ann. Neurol.* 51(1): 38-44 (2002)) и неинвазивно спектроскопией в ближней инфракрасной области (Lynch et al., *Muscle Nerve* 25(5): 664-73 (2002); van Beekvelt et al., *Ann. Neurol.* 46(4): 667-70 (1999)).

Некоторые из таких энергетических биомаркеров описаны более подробно следующим образом. Следует подчеркнуть, что хотя некоторые энергетические биомаркеры описаны и перечислены здесь, настоящее изобретение не ограничивается модулированием, нормализацией или усилением только этих перечисленных энергетических биомаркеров.

Уровень молочной кислоты (лактата):

Митохондриальная дисфункция обычно приводит к аномальному уровню молочной кислоты, в то время как уровень пирувата увеличивается и пируват превращается в лактат для поддержания функциональной активности гликолиза. Митохондриальная дисфункция может также приводить к аномальным уровням NADH +H⁺, NADPH+H⁺, NAD, или NADP, в то время как восстановленные никотинамидадениндинуклеотиды неэффективно участвуют в дыхательной цепи. Уровень лактата может быть измерен сбором образцов соответствующих физиологических жидкостей, например, общей крови, плазмы или спинномозговой жидкости. Используя магнитный резонанс, уровень лактата может быть измерен по существу в любом желаемом объёме тела, например, в мозгу.

Количественное определение мозгового лактацидоза с использованием магнитного резонанса у MELAS пациентов описано у Kaufmann et al., *Neurology* 62(8): 1297 (2004). Значения уровней молочной

кислоты в латеральных желудочках мозга представлены для двух мутаций, возникающих в MELAS, A3243G и A8344G. Общая кровь, плазма и уровень лактата спинномозговой жидкости могут быть изменены при помощи коммерчески доступного оборудования, например, YSI 2300 STAT Plus Glucose & Lactate Analyzer (YSI Life Sciences, Ohio).

Уровни NAD, NADP, NADH и NADPH:

Количественное определение NAD, NADP, NADH ($\text{NADH} + \text{H}^+$) или NADPH ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) может быть проведено при помощи различных флуоресцентных, ферментативных или электрохимических способов, например, электрохимического анализа, описанного в US 2005/0067303.

Поглощение кислорода ($v\text{O}_2$ или VO_2), продукция диоксида углерода ($v\text{CO}_2$ или VCO_2) и респираторный коэффициент (VCO_2/VO_2): $v\text{O}_2$ обычно измеряют как в состоянии покоя (покоящийся $v\text{O}_2$), так и при максимальной интенсивности физической нагрузки ($v\text{O}_2 \text{ max}$). Оптимально измеряют оба значения. Однако для значительно недееспособных пациентов измерение $v\text{O}_2 \text{ max}$ может оказаться невыполнимым. Измерение обеих форм $v\text{O}_2$ может быть легко выполнено при использовании стандартного оборудования от различных фирм, например, Korg Medical Technologies, Inc. (Salt Lake City, Utah). VCO_2 также может быть легко измерен, и соотношение VCO_2 к VO_2 в тех же самых условиях (VCO_2/VO_2 , как в состоянии покоя, так и при максимально интенсивной физической нагрузке) обеспечивает респираторный коэффициент (RQ).

Окисленный Цитохром C, восстановленный Цитохром C и соотношение окисленного Цитохрома C к восстановленному Цитохрому C: Параметры Цитохрома C, например, уровень окисленного Цитохрома C (Cyt C^{ox}), уровень восстановленного Цитохрома C ($\text{Cyt C}^{\text{red}}$) и соотношение окисленного Цитохрома C к восстановленному Цитохрому ($\text{Cyt C}^{\text{ox}}/(\text{Cyt C}^{\text{red}})$), может быть измерено *in vivo* спектроскопией в ближней инфракрасной области. Смотри, например, Rolfe, P., "In vivo near-infrared spectroscopy," *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2: 715-54 (2000) и Strangman et al., "Non-invasive neuroimaging using near-infrared light" *Biol. Psychiatry* 52:679-93 (2002).

Толерантность к физической нагрузке/Нетолерантность к физической нагрузке: Толерантность к физической нагрузке определяют как "пониженную способность проводить работы, которые включают динамическое движение больших скелетных мышц, вызываемую симптомами одышки или усталости" (Pina et al., *Circulation* 107:1210 (2003)). Нетолерантность к физической нагрузке часто сопровождается миоглобинурией, обусловленной нарушением мышечной ткани и последующей экскрецией мышечного миоглобина в мочу. Могут быть использованы различные единицы измерения нетолерантности к физической нагрузке, например, время, затраченное на прогулку или пробежку на "бегущей дорожке" до изнеможения, время, затраченное на тренировочный велосипед (стационарный велосипед) до изнеможения и т. д.. Лечение соединениями или способами настоящего изобретения может привести приблизительно к 10% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке (например, приблизительно к 10% или большему увеличению времени до изнеможения, например, от 10 до 11 мин), приблизительно к 20% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке, приблизительно к 30% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке, приблизительно к 40% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке, приблизительно к 50% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке, приблизительно к 75% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке, приблизительно к 100% или большему улучшению толерантности к физической нагрузке. Наряду с тем, что толерантность к физической нагрузке, в строгом смысле, не является энергетическим биомаркером, в целях настоящего изобретения модуляция, нормализация или усиление энергетических биомаркеров включают в себя модуляцию, нормализацию или усиление толерантности к физической нагрузке.

Аналогично, тесты на нормальные и аномальные значения уровня пировиноградной кислоты (пирувата, соотношения лактат/пируват, уровней АТФ, анаэробного порога, уровней восстановленного коэнзима Q (CoQ^{red}), уровней фосфокреатина, уровней восстановленного коэнзима Q (CoQ^{red}), уровней окисленного коэнзима Q (CoQ^{ox}), уровней общего коэнзима Q (CoQ^{tot}), уровней окисленного цитохрома C, уровней восстановленного цитохрома C, соотношения окисленного цитохрома C/восстановленному цитохрому C, уровней ацетоацетата, уровней β -гидроксипутирата, соотношения ацетоацетат/ β -гидроксипутират, уровней 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) и уровней активных форм кислорода известны в данной области техники и могут быть использованы для оценки эффективности и способов настоящего изобретения. (Для целей настоящего изобретения модулирование, нормализация или усиление энергетических биомаркеров включает в себя модулирование, нормализацию или повышение анаэробного порога.)

Табл. 1, приведённая ниже, иллюстрирует тот факт, что различные дисфункции могут оказывать влияние на биохимию и энергетические биомаркеры. Она также указывает на то, что физическое воздействие (например, симптом заболевания или другое воздействие дисфункции) обычно связано с данной дисфункцией. Следует отметить, что любой из энергетических биомаркеров, перечисленных в таблице, вместе с энергетическими биомаркерами приведёнными в других местах, может быть также подвергнут модуляции, усилению или нормализации соединениями и способами настоящего изобретения. RQ = респираторный коэффициент; BMR = основная метаболическая скорость; HR (CO) = частота сердечных со-

кращений (объёмная скорость кровотока сердца); T = температура тела (предпочтительно измеренная как внутренняя температура); AT = анаэробный порог; pH = pH крови (венозной и/или артериальной).

Таблица 1

Место дисфункции	Биохимическое событие	Определяемый энергетический биомаркер	Физический эффект
Дыхательная цепь	↑ NADH	Δ лактат, Δ соотношение лактат:пируват и Δ соотношение ацетоацетат:β- гидроксибутират	Метаболическая дискразия & усталость
Дыхательная цепь	↓ H ⁺ градиент	Δ ATP	Дисфункция, зависящая от органа
Дыхательная цепь	↓ Избыточный выброс электронов	Δ VO ₂ , RQ, BMR, ΔT, AT, pH	Метаболическая дискразия & усталость
Митохондрии & цитозоль	↓ ATP, ↓ VO ₂	Δ Работа, ΔHR (CO)	Нетолерантность к физической нагрузке
Митохондрии & цитозоль	↓ ATP	Δ PCr	Нетолерантность к физической нагрузке
Дыхательная цепь	↓ Cyt C _{Ox/Red}	Δλ~700-900 нм (спектроскопия в ближней инфракрасной области)	Нетолерантность к физической нагрузке
Промежуточный метаболизм	↓ Катаболизм	ΔC ¹⁴ -Меченные субстраты	Метаболическая дискразия & усталость
Дыхательная цепь	↓ Избыточный выброс электронов	Δ Объединённый VO ₂	Метаболическая дискразия & усталость
Митохондрии & цитозоль	↑Окислительный стресс	Δ Токоферол & Токотриенолы, CoQ10, докозагексаеновая кислота	Неопределён
Митохондрии & цитозоль	↑Окислительный стресс	Δ Глутатион _{вос}	Неопределён
Митохондрии & цитозоль	Окисление нуклеиновой кислоты	Δ 8-гидрокси-2- дезоксигуанозин	Неопределён
Митохондрии & цитозоль	Липидное окисление	Δ Изопростан(ы), эйказаноиды	Неопределён
Клеточные мембраны	Липидное окисление	Δ Этан (дыхание)	Неопределён
Клеточные мембраны	Липидное окисление	Δ Малоновый диальдегид	Неопределён

Лечение субъекта, страдающего от митохондриального заболевания, в сочетании со способами настоящего изобретения может послужить стимулом к уменьшению или ослаблению симптомов у субъекта, например, останавливать дальнейшее развитие заболевания.

Частичное или полное подавление митохондриального заболевания может привести к ослаблению тяжести одного или нескольких симптомов, которые иначе могли бы проявляться. Например, частичное подавление MELAS может приводить к уменьшению числа эпизодов, подобных инсульту или припадкам.

Каждое или любое сочетание энергетических биомаркеров, описанное здесь, обеспечивает удобные измеряемые реперы, при помощи которых определяют эффективность лечения или подавляющей терапии. Кроме того, другие энергетические биомаркеры известны специалистам в данной области техники и могут быть мониторированы для оценки эффективности лечения или подавляющей терапии.

Использование соединений для модуляции энергетических биомаркеров

Помимо мониторинга энергетических биомаркеров для оценки состояния лечения или подавления митохондриальных заболеваний соединения настоящего изобретения могут быть использованы для субъектов или пациентов для модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров. Модулирование энергетических биомаркеров может быть проведено для нормализации энергетических биомаркеров в субъекте или для усиления энергетических биомаркеров в субъекте.

Нормализация одного или нескольких энергетических биомаркеров определяется или как восстановление уровня одного или нескольких таких энергетических биомаркеров до нормального уровня или близкого к нормальному уровню у субъекта, у которого уровни одного или нескольких энергетических биомаркеров обнаруживают патологические отличия от нормальных уровней (т.е. уровней у здоровых субъектов) или как изменение уровней одного или нескольких энергетических биомаркеров для уменьшения патологических симптомов у субъекта. В зависимости от природы энергетического биомаркера такие уровни могут иметь измеряемые значения выше или ниже нормального значения. Например, патологический уровень лактата обычно выше уровня лактата у нормальной (т.е., здоровой) персоны, и уменьшение уровня может быть желательным. Патологический уровень АТФ обычно ниже уровня АТФ у нормальной (т.е., здоровой) персоны, и увеличение уровня может быть желательным. Соответственно, нормализация энергетических биомаркеров может включать в себя восстановление уровня энергетиче-

ских биомаркеров приблизительно по меньшей мере в пределах до двух стандартных отклонений от нормального уровня у субъекта, более предпочтительно по меньшей мере в пределах до одного стандартного отклонения от нормального уровня у субъекта, по меньшей мере в пределах до одной второй стандартного отклонения от нормального уровня или по меньшей мере в пределах до одной четвёртой стандартного отклонения от нормального уровня.

Увеличение уровня одного или нескольких энергетических биомаркеров определяется как изменение существующих в настоящее время уровней одного или нескольких энергетических биомаркеров у субъекта до уровня, который обеспечивает благоприятные или желательные эффекты для данного субъекта. Например, персона, которая испытывает невероятные усилия или продолжительную интенсивную физическую активность, например, восхождение на горы, может извлечь пользу из повышенного уровня АТФ или пониженного уровня лактата. Как описано выше, нормализация энергетических биомаркеров не может достигать оптимального состояния у субъекта с митохондриальным заболеванием, и такие субъекты могут также извлекать пользу из усиления энергетических биомаркеров. Примеры субъектов, которые извлекают пользу из повышенных уровней одного или нескольких энергетических биомаркеров включают в себя, но не ограничиваются субъектами, испытывающим невероятные усилия или продолжительную интенсивную физическую активность, субъектами с хроническими энергетическими проблемами или субъектами с хроническими респираторными проблемами. Такие субъекты включают в себя, но не ограничиваются беременными женщинами, особенно беременными женщинами во время родов; новорождёнными, особенно недоношенными новорождёнными; субъектами, поставленными в чрезвычайные обстоятельства, например, в условия жаркого климата (температуры обычно превышающие приблизительно 85-86°F или приблизительно 30°C в течение приблизительно 4 ч ежедневно или более), в условия холодного климата (температуры обычно ниже приблизительно 32°F или приблизительно 0°C в течение приблизительно 4 ч ежедневно или более), или в условиях с более низким по сравнению со средним уровнем содержанием кислорода, более высоким по сравнению со средним уровнем содержанием диоксида углерода или с более высоким по сравнению со средним уровнем загрязнением воздуха (пассажиры самолёта, бортпроводники, субъекты, находящиеся на возвышенности, субъекты, проживающие в городах с более низким по сравнению со средним значением качеством воздуха, субъекты, работающие в замкнутом пространстве с ухудшенным качеством воздуха); субъекты с лёгочными заболеваниями или с более низкой по сравнению со средним значением объёма лёгких, например, пациенты, страдающие туберкулёзом, пациенты, страдающие раком лёгких, пациенты, страдающие эмфиземой и пациенты, страдающие муковисцидозом; субъекты, выздоравливающие после операции или болезни; лица пожилого возраста, в том числе лица пожилого возраста, страдающие пониженной энергией; субъекты, страдающие хронической усталостью, в том числе синдромом хронической усталости; субъекты, претерпевающие острые травмы; субъекты, находящиеся в шоке; субъекты, требующие экстренного введения кислорода; субъекты, требующие постоянного введения кислорода или субъекты с неотложным, хроническим или непрерывным потреблением энергии, которые могут извлечь пользу из усиления энергетических биомаркеров.

Соответственно, когда повышение уровня одного или нескольких энергетических биомаркеров благоприятно для субъекта, усиление одного или нескольких энергетических биомаркеров может включать в себя повышение уровня соответствующего энергетического биомаркера или энергетических биомаркеров приблизительно по меньшей мере выше одной четвёртой от стандартных отклонений от нормального уровня, приблизительно по меньшей мере выше одной второй от стандартного отклонения от нормального уровня, приблизительно по меньшей мере выше одного стандартного отклонения от нормального уровня или приблизительно по меньшей мере выше двух стандартных отклонений от нормального уровня. Альтернативно, уровень одного или нескольких энергетических биомаркеров может быть повышен приблизительно по меньшей мере на 10% выше уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 20% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 30% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 40% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 50% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 75% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением или приблизительно по меньшей мере на 100% выше уровня субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением.

Когда желательно понижение уровня одного или нескольких энергетических биомаркеров для усиления одного или нескольких энергетических биомаркеров, уровень одного или нескольких энергетических биомаркеров может быть понижен на величину приблизительно, по меньшей мере, равной одной четвёртой от стандартных отклонений от нормального уровня, приблизительно, по меньшей мере, равной одной второй от стандартных отклонений от нормального уровня, приблизительно, по меньшей мере

ре, равной одному стандартному отклонению от нормального уровня, приблизительно, по меньшей мере, равной двум стандартным отклонениям от нормального уровня. Альтернативно, уровень одного или нескольких энергетических биомаркеров может быть понижен приблизительно по меньшей мере на 10% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 20% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 30% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 40% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 50% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением, приблизительно по меньшей мере на 75% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением или приблизительно по меньшей мере на 90% ниже уровня у субъекта, соответствующего одному или нескольким энергетическим биомаркерам перед повышением.

Использование соединений в научно-исследовательских применениях, экспериментальных системах и анализах

Соединения настоящего изобретения могут быть также использованы для применения в научных исследованиях. Они могут быть использованы в экспериментах *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo* для модулирования одного или нескольких энергетических биомаркеров в экспериментальной системе. Такими экспериментальными системами могут быть образцы клеток, образцы тканей, компоненты клеток или смеси компонентов клеток, частичные органы, целые органы или организмы. Хотя бы одно из соединений формулы I и Ib может быть использовано в экспериментальных системах или в научно-исследовательских применениях. Такие научно-исследовательские применения могут включать в себя, но не ограничиваться использованием в качестве аналитических реагентов для выяснения биохимических путей метаболизма или для оценки влияния других агентов на метаболическое состояние экспериментальной системы в присутствии/отсутствии одного или нескольких соединений настоящего изобретения.

Кроме того, соединения настоящего изобретения могут быть использованы в биохимических тестах или анализах. Такие тесты могут включать в себя инкубацию одного или нескольких соединений настоящего изобретения вместе с тканью или образцом клетки у субъекта для оценки потенциальной реакции субъекта (или реакции конкретной субпопуляции субъектов) на введение указанных одного или нескольких соединений или для определения, какое соединение настоящего изобретения оказывает оптимальный эффект на конкретный субъект или конкретную субпопуляцию субъектов. Один из таких тестов или анализов включает в себя: 1) получение образца клеток или образца ткани от субъекта, на которых может быть проведена модуляция одного или нескольких энергетических биомаркеров; 2) введение одного или нескольких соединений настоящего изобретения в образец клетки или образец ткани и 3) определение количества модуляций одного или нескольких энергетических биомаркеров после введения одного или нескольких соединений в сравнении со статусом энергетического биомаркера перед введением одного или нескольких соединений. Другой подобный тест или анализ включает в себя: 1) получение образца клеток или образца ткани от субъекта, на которых может быть проведена модуляция одного или нескольких энергетических биомаркеров; 2) введение по меньшей мере двух соединений настоящего изобретения в образец клетки или образец ткани и 3) определение количества модуляций одного или нескольких энергетических биомаркеров после введения по меньшей мере двух соединений в сравнении со статусом энергетического биомаркера перед введением, по меньшей мере, соединений, и 4) выбор соединения для использования при лечении, подавлении или модуляции, основанном на количестве модуляций, определённых на стадии 3).

Фармацевтические композиции

Соединения, описанные здесь, могут создаваться как фармацевтические композиции, в рецептуру которых входят такие добавки, как фармацевтически приемлемые эксципиенты, фармацевтически приемлемые носители и фармацевтически приемлемые наполнители. Подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты, носители и наполнители включают в себя участвующие в композиции агенты и модификаторы доставки лекарственных средств и усилители, например, фосфат кальция, стеарат магния, тальк, моносахариды, дисахариды, крахмал, желатину, целлюлозу, метилцеллюлозу, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, декстрозу, гидроксипропил- β -циклодекстрин, поливинилпирролидон, низкоплавящиеся воски, ионообменные смолы и т.п., а также комбинации из любых двух или нескольких компонентов. Другие подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Pub. Co., New Jersey (1991) и "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 20th edition (2003) и 21st edition (2005), включённые сюда в виде ссылок.

Фармацевтическая композиция может содержать лекарственное средство в дозах на один приём, где однократная доза представляет собой дозу, достаточную для проявления терапевтического или супрессивного эффекта или количество, эффективное для модулирования, нормализации или усиления энерге-

тического биомаркера. Однократная доза может быть достаточной в качестве единичной дозы для проявления терапевтического или супрессивного эффекта или представлять собой количество, эффективное для модулирования, нормализации или усиления энергетического биомаркера. Альтернативно, однократная доза может быть дозой, периодически вводимой в ходе лечения или подавления нарушения или для модуляции, нормализации или усиления энергетического биомаркера.

Фармацевтические композиции, содержащие соединения настоящего изобретения могут находиться в любой форме, подходящей для предполагаемого способа введения, в том числе, например, в растворе, суспензии или эмульсии. Жидкие носители обычно используют для приготовления растворов, суспензий и эмульсий. Жидкие носители, которые намереваются использовать на практике настоящего изобретения включают в себя, например, воду, солевой раствор, фармацевтически приемлемый органический растворитель(и), фармацевтически приемлемые масла или жиры и т.п., а также смеси двух или большего количества компонентов. Жидкий носитель может содержать другие подходящие фармацевтически приемлемые добавки, такие как солюбилизаторы, эмульгаторы, питательные вещества, буферы, консерванты, суспендирующие агенты, загустители, регуляторы вязкости, стабилизаторы и т.п. Подходящие органические растворители включают в себя, например, одноатомные спирты, например, этанол и, многоатомные спирты, например, глицоли. Подходящие масла включают в себя, например, соевое масло, кокосовое масло, оливковое масло, сафлоровое масло, хлопковое масло и т.п. Для парэнтерального введения носителем может быть также сложный эфир жирной кислоты, например, этилолеат, изопропилмириститат и т.п. Композиции настоящего изобретения могут также находиться в форме микрочастиц, микрокапсул, липосомальных инкапсулатов и т.п., а также в виде комбинаций любых двух или большего числа компонентов.

Может быть использовано пролонгированное действие или системы контролируемой доставки лекарственных веществ, например, диффузионно контролируемые матричные системы или эродируемые системы, как описано, например, в Lee, "Diffusion-Controlled Matrix Systems", pp. 155-198 и Ron and Langer, "Erodible Systems", pp. 199-224, in "Treatise on Controlled Drug Delivery", A. Kydonieus Ed., Marcel Dekker, Inc., New York 1992. Матрица может быть, например, биodeградируемым материалом, который может спонтанно разрушаться *in situ* и *in vivo*, например, при гидролизе или ферментативном расщеплении, например протеазами. Системы доставки могут, например, представлять собой встречающиеся в природе или синтетические полимеры и сополимеры, например, в виде гидрогеля. Типичные полимеры с расщепляемыми связями включают в себя сложные полиэфиры, полиортоэфиры, полиангидриды, полисахариды, поли(фосфоэфиры), полиамиды, полиуретаны, поли(имидокарбонаты) и поли(фосфазены).

Соединения настоящего изобретения могут быть введены энтерально, перорально, парэнтерально, подязычно, при помощи ингаляций (например, в виде аэрозолей или спреев), ректально или местно в виде дозированной формы для однократного введения, содержащей стандартные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адьюванты и наполнители по желанию. Например, подходящие способы введения включают в себя пероральное, подкожное, трансдермальное, трансмукозальное, ионтофоретическое, внутривенное, внутриартериальное, внутримышечное, внутрибрюшинное, внутриносовое (например, через слизистую оболочку носа), субдуральное, ректальное, желудочно-кишечное и т.п. введение, и введение непосредственно к специфическому или поражённому органу или ткани. Для доставки к центральной нервной системе может быть использовано спинномозговое и эпидуральное введение или введение в желудочек головного мозга. Местное введение может также включать в себя использование трансдермальных пластырей или ионтофоретических устройств. Термин парэнтеральное, в используемом здесь контексте, включает в себя подкожные инъекции, способы внутривенных, внутримышечных, подложечных инъекций или вливаний. Соединения смешивают с фармацевтически приемлемыми носителями, адьювантами и наполнителями, подходящими для желаемого способа введения. Пероральное введение является предпочтительным способом введения и композиции, подходящие для перорального введения, являются предпочтительными композициями. Соединения, описанные здесь для применения, могут быть введены в твёрдой форме, в жидкой форме, в форме аэрозоля или в форме таблеток, пилюль, порошкообразных смесей, капсул, гранул, инъекционных препаратов, кремов, растворов, свечей, клизм, спринцевания толстой кишки, эмульсий, дисперсий, пищевых смесей и в других подходящих формах. Соединения могут быть также введены в форме липосомных композиций. Соединения могут быть также введены в виде пролекарств, когда пролекарство претерпевает трансформацию внутри больного в форму, являющуюся терапевтически эффективной. В настоящей области знаний известны также и другие способы введения.

Инъецируемые препараты, например, стерильные инъецируемые водные или масляные суспензии могут быть произведены в соответствии с известными способами с использованием подходящих диспергирующих или увлажняющих агентов и суспендирующих агентов. Стерильные инъецируемые препараты могут также быть стерильным инъецируемым раствором или суспензией в нетоксичном парэнтеральном разбавителе или растворителе, например, в растворе пропиленгликоля. В качестве приемлемых транспортных средств и растворителей могут быть использованы вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные, нелетучие масла обычно используют в качестве растворителя или суспензионной среды. С этой целью может быть использовано любое лёгкое нелетучее масло, в

том числе синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для приготовления инъеклируемых препаратов находят применение жирные кислоты, например, олеиновая кислота.

Твёрдые лекарственные формы для перорального введения могут включать в себя капсулы, таблетки, пилюли, порошкообразные смеси и гранулы. В таких твёрдых лекарственных формах активный компонент может быть смешан по меньшей мере с одним инертным разбавителем, например, сахарозой, лактозой или крахмалом. Такие лекарственные формы могут также содержать дополнительные вещества, отличные от инертных разбавителей, например, смазывающие вещества, например, стеарат магния. В случае капсул, таблеток и пилюль лекарственные формы могут также содержать буферные агенты. Таблетки и пилюли могут быть дополнительно получены в кишечнорастворимой оболочке.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения могут включать в себя фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры, содержащие инертные разбавители, обычно используемые в данной области, например, воду. Такие композиции могут также содержать адьюванты, например, увлажняющие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, циклодекстрины и подсластители, ароматизаторы и отдушивающие агенты.

Соединения настоящего изобретения могут быть также введены в форме липосом. Как известно в данной области техники, липосомы обычно получают из фосфолипидов или других липидных соединений. Липосомы образуются из моно-и мультисамельных гидратированных жидких кристаллов, диспергированных в водной среде. Может быть использован любой нетоксичный, физиологически приемлемый липид, способный образовывать липосомы. Данные композиции в липосомальной форме могут содержать помимо соединения настоящего изобретения стабилизаторы, консервирующие агенты, вспомогательные вещества и т. п. Предпочтительными липидами являются фосфолипиды и фосфатидилхолины (лецитины), как природные, так и синтетические. Способы получения липосом известны в данной области техники. См., например, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.W., p. 33 et seq (1976).

Изобретение также предоставляет изделия и наборы, содержащие материалы, применимые для лечения или подавления митохондриальных заболеваний. Изобретение также предоставляет наборы, содержащие одно или несколько соединений формул I и Ib. В некоторых вариантах осуществления набор настоящего изобретения содержит контейнер, описанный выше.

В других аспектах наборы могут быть использованы для любого из способов, описанного здесь, в том числе, например, для лечения индивидуума с митохондриальным нарушением, или для подавления митохондриального нарушения у индивидуума.

Количество активного ингредиента, который может быть соединён с материалами носителя для получения одноразовой лекарственной формы, варьирует в зависимости от хозяина, которому вводят активный ингредиент и от конкретного способа введения. Однако, понятно, что конкретный уровень лекарственной формы для любого конкретного пациента зависит от различных факторов, в том числе от активности конкретного используемого соединения, возраста, массы тела, площади тела, индекса массы тела (BMI), общего состояния здоровья, пола, диеты, времени введения, способа введения, скорости экскреции, комбинации лекарств и типа, развития и тяжести конкретного заболевания, требующего лечения. Выбранную фармацевтическую дозированную лекарственную форму обычно производят и вводят для того, чтобы обеспечить определённую конечную концентрацию лекарственного соединения в крови, тканях, органах или других целевых областях тела. Терапевтически эффективное количество или эффективное количество для данной ситуации может быть легко определено рутинным экспериментом и находится в пределах квалификации и здравого смысла обычного практикующего врача.

Примеры лекарственных форм, которые могут быть использованы, представляют собой эффективное количество в диапазоне интервала доз приблизительно от 0,1 приблизительно до 300 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 1,0 приблизительно до 100 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 1,0 приблизительно до 50 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 1,0 приблизительно до 30 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 1,0 приблизительно до 10 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 10 приблизительно до 100 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 50 приблизительно до 150 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 100 приблизительно до 200 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 150 приблизительно до 250 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 200 приблизительно до 300 мг/кг массы тела или в диапазоне приблизительно от 250 приблизительно до 300 мг/кг массы тела. Соединения настоящего изобретения могут быть введены в виде одноразовой лекарственной формы или общая дневная лекарственная доза может быть введена будучи поделённой на две, три или четыре дозы ежедневно.

Несмотря на то, что соединения настоящего изобретения могут быть введены в виде единственного активного фармацевтического агента, они также могут быть использованы в сочетании с одним или несколькими агентами, используемыми для лечения или подавления нарушений. Типичные представители агентов, используемых в сочетании с соединениями настоящего изобретения для лечения или подавления митохондриальных нарушений, включают в себя, но не ограничиваются Коэнзимом Q, витамином E, идебеноном, MitoQ, витаминами и антиоксидантами.

Когда дополнительные активные агенты используют в сочетании с соединениями настоящего изо-

брения, дополнительные активные агенты могут быть использованы в терапевтических количествах, как указано в Physicians' Desk Reference (PDR) 53rd Edition (1999), или в таких используемых терапевтических количествах, которые известны специалистам в данной области техники.

Соединения настоящего изобретения и другие терапевтически активные агенты могут быть введены в рекомендуемых максимальных клинических дозах или в более низких дозах. Дозировку активных соединений в композиции настоящего изобретения можно варьировать так, чтобы получить желаемую терапевтическую реакцию, зависящую от способа введения, тяжести заболевания и реакции пациента. При введении в комбинации с другими терапевтическими агентами терапевтические агенты могут быть произведены в виде самостоятельных композиций, которые дают одновременно или в разное время или терапевтические агенты могут давать как единую композицию.

Настоящее изобретения в дальнейшем станет понятным из следующих неограничивающих примеров.

В целом, номенклатура, используемая в этой заявке, создана при помощи комплекта наименований в рамках ChemOffice.RTM. version 11.0 suite of programs by CambridgeSoft Corp (Cambridge, Mass.).

Получение соединений настоящего изобретения

Соединения настоящего изобретения могут быть получены из легко доступных исходных материалов с использованием следующих общих методик и процедур. Следует принять во внимание, что когда приводятся типичные или предпочтительные условия процесса (а именно, температуры реакции, времени, молярные соотношения реагентов, растворители, давление и т.д.), также могут быть использованы и другие условия процесса, если нет других указаний. Оптимальные условия реакции могут меняться в зависимости от используемых конкретных реагентов или растворителей, но такие условия могут определяться специалистами в данной области техники обычными процедурами оптимизации.

Кроме того, соединения настоящего изобретения обычно содержат один или несколько хиральных центров. Соответственно, при желании такие соединения могут быть получены или выделены в виде чистых стереоизомеров, т.е. индивидуальных энантиомеров или диастереомеров, или в виде смесей, обогащенных стереоизомерами. Все такие стереоизомеры (и обогащенные смеси) включены в область настоящего изобретения, если не оговорено противное. Чистые стереоизомеры (или обогащенные смеси) могут быть получены, например, с использованием оптически активных исходных материалов или стереоселективных реагентов, хорошо известных в данной области техники. В качестве альтернативы, рацемические смеси таких соединений могут быть разделены с использованием, например, хиральной колонной хроматографии, хиральных расщепляющих агентов и т.п.

Протокол А: Синтез 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамидов.

6-Гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту (1 экв.) растворяют в 0,2 М ТГФ и перемешиваемый бледно-жёлтый раствор обрабатывают карбонилдиимидазолом (КДИ) (1,1 экв.). Реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч и добавляют раствор амина (1,1 экв. 0,2 М в ТГФ) в течение 1 ч и реакционную смесь перемешивают в течение ночи. Раствор концентрируют, разбавляют до 0,04 М в CH_2Cl_2 и последовательно промывают половинными объёмами 0,5 М HCl , 1,0 М NaHCO_3 , насыщенным раствором NaCl , органический слой сушат над Na_2SO_4 и концентрируют. Флэш-хроматографией получают желаемое производное 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида.

Протокол В: Окисление 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамидов

Раствор 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида (1,0 экв.) в 3 мл AcCN (0,28 М) и с каплей воды охлаждают до 0°C . Раствор церийаммонийнитрата (ЦАН) (2,2 экв.) в воде (0,5 М), охлаждённого до 0°C , добавляют по каплям в течение 2-3 мин. Затем раствор немедленно обрабатывают 10 мл EtOAc и слои разделяют. Органический слой промывают 3×5 мл H_2O и объединённые водные фазы вновь экстрагируют 3×5 мл EtOAc . Объединённые органические фазы промывают 10 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Флэш-хроматографией получают желаемое производное 2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

Пример 1. N-трет-Бутил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 355 мг КДИ (2,20 ммоль) и 160 мг трет-бутиламина (2,20 ммоль) приводит к образованию 125,1 мг N-трет-бутил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде белого кристаллического твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,40 (шир с, 1H), 4,51 (с, 1H), 2,60 (м, 2H), 2,26 (м, 1H), 2,19 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,10 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,47 (с, 3H), 1,26 (м, 9H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 95 мг (0,311 ммоль) N-трет-бутил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 358 мг ЦАН (0,653 ммоль) приводит к получению 92,2 мг N-трет-бутил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,61 (шир с, 1H), 3,45 (с, 1H), 2,55 (м, 1H), 2,39 (м, 1H), 2,04-1,91 (м, 10H), 1,56 (м, 1H), 1,37 (м, 12H).

Пример 2. 2-Гидрокси-N,N,2-триметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 504 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,01 ммоль), 361 мг КДИ (2,23 ммоль) и 1,1 мл 2,0 М раствора N,N-диметиламина в ТГФ (2,2 ммоль) приводит к получению 412 мг 6-гидрокси-N,N,2,5,7,8-гексаметилхроман-2-карбоксамид в виде аморфного порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,31 (с, 1H), 3,26 (с, 3H), 2,85 (с, 3H), 2,80-2,41 (м, 3H), 2,16 (с, 6H), 2,08 (с, 3H), 1,70-1,60 (м, 4H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 138,6 мг (0,50 ммоль) 6-гидрокси-N,N,2,5,7,8-гексаметилхроман-2-карбоксамид и 560 мг ЦАН (1,02 ммоль) приводит к получению 139,9 мг 2-гидрокси-N,N,2-триметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 5,07 (с, 1H), 2,23 (шир с, 3H), 3,07 (шир с, 3H), 2,51 (м, 1H), 2,33 (м, 1H), 2,02 (м, 3H), 1,99-1,94 (м, 7H), 1,69 (м, 1H), 1,47 (с, 3H).

Пример 3. N-Бензил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 362 мг КДИ (2,23 ммоль) и 235 мг бензиламина (2,20 ммоль) приводит к получению 507 мг N-бензил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде коричневого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,22 (м, 3H), 7,00 (м, 2H), 6,76 (шир т, 1H), 4,81 (с, 1H), 4,50 (м, 1H), 4,35 (м, 1H), 2,62 (м, 2H), 2,45 (м, 1H), 2,16 (с, 3H), 2,11 (с, 6H), 1,92 (м, 1H), 1,58 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 130 мг (0,383 ммоль) N-бензил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 441 мг ЦАН (0,805 ммоль) приводит к получению 119,7 мг N-бензил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтой пены.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26 (м, 6H), 4,42 (м, 2H), 3,57 (с, 1H), 2,56 (м, 1H), 2,36 (м, 1H), 2,04-1,93 (м, 10H), 1,59 (м, 1H), 1,42 (с, 3H).

Пример 4. N-этил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 356 мг КДИ (2,20 ммоль) и 1,1 мл 2,0 М раствора этиламина в метаноле (2,2 ммоль) приводит к получению 334 мг N-этил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,44 (шир с, 1H), 4,40 (с, 1H), 3,24 (м, 2H), 2,57 (м, 2H), 2,31 (м, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,10 (с, 3H), 1,89 (м, 1H), 1,49 (с, 3H), 1,07 (т, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 100 мг (0,360 ммоль) N-этил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 415 мг ЦАН (0,757 ммоль) приводит к получению 96,2 мг N-этил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,87 (шир с, 1H), 3,64 (с, 1H), 3,29 (м, 2H), 2,56 (м, 1H), 2,38 (м, 1H), 2,10-1,97 (м, 10H), 1,59 (м, 1H), 1,39 (с, 3H), 1,15 (т, 3H).

Пример 5. 2-Гидрокси-2-метил-N-пропил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 502,3 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,01 ммоль), 358 мг КДИ (2,21 ммоль) и 130 мг пропиламина (2,20 ммоль) приводит к получению 371 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-пропилхроман-2-карбоксамид в виде не совсем белого сиропа.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,50 (шир с, 1H), 4,85 (шир с, 1H), 3,18 (кв, 2H), 2,62 (м, 2H), 2,37 (м, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,91 (м, 1H), 1,50 (с, 3H), 1,42 (м, 2H), 0,80 (т, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 90,6 мг (0,311 ммоль) 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-пропилхроман-2-карбоксамид и 374,9 мг ЦАН (0,684 ммоль) приводит к получению 2-гидрокси-2-метил-N-пропил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,89 (шир т, 1H), 3,61 (с, 1H), 2,21 (кв, 2H), 2,56 (м, 1H), 2,36 (м, 1H), 2,02 (м, 10H), 1,56 (м, 3H), 1,40 (м, 3H), 0,92 (т, 3H).

Пример 6. N-(Циклопропилметил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 502 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,01 ммоль), 356 мг КДИ (2,20 ммоль) и 158 мг циклопропанметиламина (2,22 ммоль) приводит к получению 445 мг N-(циклопропилметил)-6-

гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в прозрачного бесцветного масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,53 (шир с, 1H), 4,39 (с, 1H), 3,05 (м, 2H), 2,57 (м, 2H), 2,31 (м, 2H), 2,17 (с, 6H), 2,08 (с, 3H), 1,90 (м, 1H), 1,50 (м, 3H), 0,86 (м, 1H), 0,40 (м, 2H), 0,070 (м, 2H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 76,7 мг (0,253 ммоль) N-(циклопропилметил)-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 435 мг ЦАН (0,794 ммоль) приводит к получению 71,4 мг N-(циклопропилметил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,93 (шир т, 1H), 3,46 (с, 1H), 3,13 (т, 2H), 2,58 (м, 1H), 2,42 (м, 1H), 2,05-1,84 (м, 10H), 1,60 (м, 1H), 1,42 (с, 3H), 0,97 (м, 1H), 0,51 (м, 2H), 0,22 (м, 2H).

Пример 7. 2-Гидрокси-N-изопентил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 492 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (1,97 ммоль), 370 мг КДИ (2,28 ммоль) и 192 мг 3-метилбутиламина (2,20 ммоль) приводит к получению 375 мг 6-гидрокси-N-изопентил-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белых кристаллов.

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 101 мг (0,316 ммоль) 6-гидрокси-N-изопентил-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 380 мг ЦАН (0,694 ммоль) приводит к получению 101,2 мг 2-гидрокси-N-изопентил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,85 (шир т, 1H), 3,65 (с, 1H), 3,65 (кв, 2H), 2,55 (м, 1H), 2,35 (м, 1H), 2,02-1,95 (м, 10H), 1,59 (м, 2H), 1,43-1,37 (м, 5H), 0,89 (д, 6H).

Пример 8. 2-Гидрокси-2-метил-N-фенетил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 356 мг КДИ (2,20 ммоль) и 266 мг фенетиламина (2,2 ммоль) приводит к получению 440 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-фенетилхроман-2-карбоксамид в виде прозрачного бледно коричневого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,21 (м, 3H), 7,05 (м, 2H), 6,46 (шир т, 1H), 4,29 (с, 1H), 3,52 (м, 2H), 2,78-2,57 (м, 3H), 2,48 (м, 1H), 2,33 (дт, 1H), 2,16 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 1,98 (с, 3H), 1,82 (м, 1H), 1,47 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 102 мг (0,287 ммоль) 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-фенетилхроман-2-карбоксамид и 355 мг ЦАН (0,647 ммоль) приводит к получению 95,8 мг 2-гидрокси-2-метил-N-фенетил 4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,29 (м, 2H), 7,20 (м, 3H), 6,88 (шир т, 1H), 3,54 (м, 2H), 3,32 (с, 1H), 2,84 (т, 2H), 2,48 (м, 1H), 2,29 (м, 1H), 2,02-1,94 (м, 10H), 1,54 (м, 1H), 1,36 (с, 3H).

Пример 9. 2-Гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 357 мг КДИ (2,20 ммоль) и 165 мг 3-аминопропанола (2,2 ммоль) приводит к получению 297 мг 6-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде аморфного белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,78 (шир т, 1H), 4,88 (шир с, 1H), 3,50-3,31 (м, 5H), 2,66-2,49 (м, 2H), 2,33 (м, 1H), 2,17 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,66-1,51 (м, 5H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 56,7 мг (0,184 ммоль) 6-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 222 мг ЦАН (0,406 ммоль) приводит к получению 49,7 мг 2-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,19 (шир т, 1H), 3,65 (кв, 2H), 3,58 (шир с, 1H), 3,43 (м, 2H), 2,56 (м, 1H), 2,41 (м, 1H), 2,05-1,99 (м, 10H), 1,73 (квинтет, 2H), 1,61 (м, 1H), 1,42 (с, 3H).

Пример 10. N-Циклопропил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 357 мг КДИ (2,00 ммоль) и 126 мг циклопропиламина (2,2 ммоль) приводит к получению 227 мг N-циклопропил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде бледно коричневого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,50 (шир с, 1H), 4,32 (шир с, 1H), 2,68-2,58 (м, 3H), 2,32 (м, 1H), 2,17 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 1,87 (м, 1H), 1,48 (с, 3H), 0,75 (м, 2H), 0,38 (м, 2H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 100 мг (0,346 ммоль) N-циклопропил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 417 мг ЦАН (0,762 ммоль) приводит к получению 40 мг N-циклопропил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутан-

амида в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,86 (шир с, 1H), 3,45 (с, 1H), 2,74 (м, 1H), 2,54 (м, 1H), 2,38 (м, 1H), 2,02-1,98 (м, 9H), 1,77 (д, 1H), 1,58 (м, 1H), 1,39 (с, 3H), 0,79 (кв, 2H), 0,53 (м, 2H).

Пример 11. 2-Гидрокси-N-изобутил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 510 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,04 ммоль), 357 мг КДИ (2,20 ммоль) и 161 мг изобутиламина (2,2 ммоль) приводит к получению 467 мг 6-гидрокси-N-изобутил-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде не совсем белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49 (шир с, 1H), 4,29 (с, 1H), 3,09 (м, 1H), 3,00 (м, 1H), 2,59 (м, 2H), 2,36 (дт, 1H), 2,10 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,52 (с, 3H), 0,76 (дд, 6H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 84 мг (0,278 ммоль) 6-гидрокси-N-изобутил-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 335 мг ЦАН (0,612 ммоль) приводит к получению 78 мг 2-гидрокси-N-изобутил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлто-оранжевого масла.

^1H NMR (400 МГц, CDCl_3) δ 6,94 (т, 1H), 3,55 (с, 1H), 3,09 (м, 2H), 2,58 (м, 1H), 2,89 (м, 1H), 2,07-1,94 (м, 10H), 1,79 (м, 1H), 1,58 (м, 1H), 1,41 (с, 3H), 0,88 (д, 6H).

Пример 12. 2-(3-Гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 370 мг КДИ (2,28 ммоль) и 222 мг 4-гидроксипиперидина (2,20 ммоль) приводит к получению 222 мг (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(4-гидроксипиперидин-1-ил)метанона в виде белой пены.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,56-4,31 (шир д, 1H), 4,27 (шир с, 1H), 4,08 (шир с, 1H), 3,85 (м, 1H), 3,56-3,46 (шир м, 1H), 3,08 (шир с, 1H), 3,77 (м, 1H), 2,57 (н, 2H), 2,15 (с, 6H), 2,08 (м, 3H), 1,82 (шир с, 2H), 1,69 (м, 1H), 1,58 (шир с, 6H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 100 мг (0,302 ммоль) (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(4-гидроксипиперидин-1-ил)метанона и 364 мг ЦАН (0,664 ммоль) приводит к получению 95 мг жёлтого сиропа.

^1H NMR (400 МГц, CDCl_3) δ 4,00 (м, 4H), 3,45 (м, 3H), 2,53-2,42 (м, 1H), 2,05-1,92 (м, 10H), 1,71 (м, 1H), 1,56 (м, 3H), 1,49 (с, 3H).

Пример 13. N-Этил-2-гидрокси-N,2-диметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 499 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 360 мг КДИ (2,22 ммоль) и 130 мг N-метилэтиламина (2,2 ммоль) приводит к получению N-этил-6-гидрокси-N,2,2,5,7,8-пентаметилхроман-2-карбоксамид в виде прозрачного масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,30 (шир с, 1H), 3,82 (В, м, 2H), 3,44 (А, м, 1H), 3,20 (А, с, 3H), 3,08 (А, м, 1H), 2,82 (В, с, 3H), 2,75 (м, 1H), 2,66-2,52 (м, 2H), 2,16 (с, 6H), 2,08 (с, 3H), 1,70-1,58 (м, 4H), 1,03 (А+В, дт, 3H); два ротомера в смеси 60:40, А и В

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 78 мг (0,268 ммоль) N-этил-6-гидрокси-N,2,2,5,7,8-пентаметилхроман-2-карбоксамид и 323 мг ЦАН (0,590 ммоль) приводит к получению N-этил-2-гидрокси-N,2-диметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла.

^1H NMR (400 МГц, CDCl_3) δ 5,12 (шир с, 1H), 3,61 (шир с, 1H), 3,40 (шир с, 1H), 3,21 (с, 3H), 2,98 (шир с, 1H), 2,51 (тд, 1H), 2,35 (шир с, 1H), 2,02 (с, 3H), 1,97 (с, 6H), 1,67 (тд, 1H), 1,46 (с, 3H), 1,80 (шир м, 3H).

Пример 14. 2-(3-Гидрокси-3-метил-4-(4-метилпиперазин-1-ил)-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 502 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,01 ммоль), 354 мг КДИ (2,18 ммоль) и 220 мг N-метилпиперазина (2,2 ммоль) приводит к получению 557 мг (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(4-метилпиперазин-1-ил)метанона в виде прозрачного масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,02 (шир с, 2H), 3,56 (шир д, 2H), 2,78 (м, 1H), 2,55 (м, 2H), 2,35 (шир с, 4H), 2,24 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,13 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 1,72 (м, 1H), 1,58 (2, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 122 мг (0,368 ммоль) (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(4-метилпиперазин-1-ил)метанона и 444 мг ЦАН (0,811 ммоль) приводит к получению 2-(3-гидрокси-3-метил-4-(4-метилпиперазин-1-ил)-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-диона в виде оранжевого масла, 67,9 мг.

^1H NMR (400 МГц, CDCl_3) δ 4,91 (шир с, 1H), 3,77 (шир м, 4H), 2,58-2,30 (м, 8H), 2,04-1,76 (м, 10H), 1,71 (м, 1H), 1,48 (с, 3H).

Пример 15. 2-(4-(4-Бензилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 506 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,02 ммоль), 365 мг КДИ (2,25 ммоль) и 386 мг 1-бензилпиперазина (2,2 ммоль) приводит к получению 568 мг (4-бензилпиперазин-1-ил)(6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)метанола в виде белого порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,30 (м, 5H), 5,18 (шир с, 1H), 4,06 (шир м, 2H), 3,66 (шир с, 1H), 3,47 (дд, 2H), 2,78 (м, 1H), 2,58 (м, 2H), 2,39 (м, 5H), 2,18 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 1,74 (м, 1H), 1,60 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 98 мг (0, 242 ммоль) (4-бензилпиперазин-1-ил)(6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)метанола и 291 мг ЦАН (0, 531 ммоль) приводит к получению 2-(4-(4-бензилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-диона в виде жёлтого масла.

^1H NMR (400 МГц, CDCl_3) δ 7,21 (м, 5H), 4,94 (с, 1H), 3,70 (шир с, 2H), 3,63 (шир с, 2H), 3,98 (дд, 2H), 2,49-2,31 (м, 6H), 1,96 (с, 3H), 1,91 (с, 6H), 1,84 (м, 1H), 1,61 (м, 1H), 1,30 (с, 3H).

APCI-MS M^+ +H 425 m/z.

Пример 16. 2-Гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 498 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (1,99 ммоль), 367 мг КДИ (2,26 ммоль) и 1,4 мл 7,0 М NH_3 в MeOH (9,8 ммоль) приводит к получению 187 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого твёрдого вещества.

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 186 мг (0, 747 ммоль) 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 907 мг ЦАН (1, 65 ммоль) приводит к получению 157 мг 2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, d_4 -MeOH) δ 2,71 (ддд, 1H), 2,39 (ддд, H), 2,01 (с, 3H), 1,99 (с, 6H), 1,85 (ддд, 1H), 1,58 (м, 1H), 1,38 (с, 3H).

Пример 17. 2-Гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 507 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,03 ммоль), 356 мг КДИ (2,20 ммоль) и 196 мг 4-аминобутанола (2,20 ммоль) приводит к получению 488 мг 6-гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, d_4 -MeOH) δ 7,22 (шир т, 1H), 3,41 (т, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,12 (м, H), 2,61 (дт, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,32 (дт, 1H), 2,16 (с, 3H), 2,14 (с, 3H), 2,05 (с, 3H), 1,75 (м, 1H), 1,47 (с, 3H), 1,41 (м, 2H), 1,28 (м, 2H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 100 мг (0, 311 ммоль) 6-гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 375 мг ЦАН (0, 685 ммоль) приводит к получению 2-гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,12 (т, 1H), 3,97 (с, 1H), 3,67 (т, 2H), 3,29 (кв, 2H), 2,81 (шир с, 1H), 3,56 (тд, 1H), 2,34 (тд, 1H), 2,02-1,92 (м, 10H), 1,61 (м, 5H), 1,39 (с, 3H).

Пример 18. 2-Гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 497 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (1,98 ммоль), 370 мг КДИ (2,28 ммоль) и 239 мг 5-аминопентанола (2,2 ммоль) приводит к получению 468 мг 6-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде бледно коричневого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, d_4 -MeOH) δ 7,16 (шир т, 1H), 3,42 (т, 2H), 3,07 (м, 1H), 2,60 (дт, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,36 (м, 1H), 2,18 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,06 (2, 3H), 1,78 (м, 1H), 1,49 (с, 3H), 1,37 (м, 4H), 1,09 (м, 2H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 96 мг (0, 286 ммоль) 6-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 345 мг ЦАН (0, 629 ммоль) приводит к получению 92,8 мг 2-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,96 (т, 1H), 3,83 (шир с, 1H), 3,65 (т, 2H), 3,26 (кв, 2H), 2,65 (тд, 1H), 2,35 (м, 1H), 2,24 (шир с, 1H), 2,02-1,93 (м, 10H), 1,57 (м, 5H), 1,43 (м, 5H).

Пример 19. 2-Гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 365 мг КДИ (2,25 ммоль) и 165 мг 2-амино-1-пропанола (2,2 ммоль) приводит к получению 488 мг 6-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-

ил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде бледно коричневой пены.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,31 (т, 0,4H), 7,21 (т, 0,6H), 3,97 (шир с, 1,5H), 3,83 (шир с, 0,4H), 3,56 (шир с, 0,6H), 3,53-3,44 (м, 1H), 3,67 (шир с, 0,4H), 3,16 (м, 1H), 2,58 (м, 1H), 2,36 (м, 1H), 2,03-1,90 (м, 10H), 1,61 (м, 1H), 1,424 (с, 1,4H), 1,416 (с, 1,6H), 1,21 (д, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 102,2 мг (0,329 ммоль) 6-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 397 мг ЦАН (2,45 ммоль) приводит к получению 98,5 мг 2-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтой пены.

Пример 20. 2-Гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

6-Гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту (5,00 г 19,98 ммоль) в 150 мл ТГФ обрабатывают 3,65 г КДИ (22,5 ммоль) и перемешивают экзотермическую реакционную смесь в течение 1 часа при комнатной температуре. В течение 1 ч добавляют этаноламин (1,35 г 22,10 ммоль) в 50 мл ТГФ и раствор перемешивают в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют, растворяют в 375 мл CH_2Cl_2 и промывают 250 мл 0,1М HCl , 250 мл 0,5М NaHCO_3 , 2×100 мл насыщенным раствором NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Подкисленную водную фазу экстрагируют 3×100 мл CH_2Cl_2 и промывают 50 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Объединённые органические слои концентрируют и очищают от флэш-хроматографией, что приводит к получению 2,88 г 6-гидрокси-N-(1-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде белого не совсем чистого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,88 (шир с, 1H), 4,35 (т, 2H), 3,62 (м, 2H), 3,39 (м, 2H), 2,60 (м, 2H), 2,50 (т, 2H), 2,34 (м, 1H), 2,27 (м, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,90 (м, 1H), 1,53 (с, 3H).

6-Гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид (2,38 г, 8,11 ммоль) растворяют в 150 мл AcCN , охлаждают до 0°C и обрабатывают 9,75 г ЦАН (17,84 ммоль) в 30 мл H_2O в течение 20 мин. Затем добавляют EtOAc (150 мл) и H_2O (20 мл), слои разделяют и органическую фазу промывают 21×20 мл H_2O . Водную фазу вновь экстрагируют 4×50 мл EtOAc и объединённые органические слои промывают насыщенным раствором NaCl , сушат над Na_2SO_4 и концентрируют до получения жёлтого порошка. Флэш-хроматографией получают 1,68 г 2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, d_6 - Acce) δ 7,55 (шир с, 1H), 4,62 (с, 1H), 3,99 (т, 1H), 3,62 (кв, 2H), 3,34 (м, 2H), 2,69 (тд, 1H), 2,36 (тд, 1H), 1,98 (с, 9H), 1,89 (м, 1H), 1,60 (м, 1H), 1,37 (с, 3H).

Пример 21. 2-Гидрокси-N-(2-метоксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 499 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 370 мг КДИ (2,28 ммоль) и 165,2 мг 2-метоксиэтиламина (2,20 ммоль) приводит к получению 6-гидрокси-N-(2-метоксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде белого кристаллического твёрдого вещества.

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 101 мг (0,329 ммоль) 6-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 396 мг ЦАН (0,724 ммоль) приводит к получению 98,5 мг 2-гидрокси-N-(2-метоксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого кристаллического твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,14 (шир с, 1H), 3,53 (с, 1H), 3,46 (м, 4H), 3,35 (с, 3H), 2,58 (тд, 1H), 2,37 (тд, 1H), 2,05-1,94 (м, 10H), 1,60 (м, 1H), 1,41 (с, 3H).

Пример 22. Метил 2-(2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамидо)ацетат

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 499 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль) и 361 мг КДИ (2,23 ммоль) растворяют в ТГФ. Метилловый эфир глицингидрохлорида (263,7 мг, 2,1 ммоль), растворённый в 10 мл ТГФ, 5 мл CH_2Cl_2 , 100 мкл Et_3N и 2,5 мл MeOH добавляют в течение 1 ч. Обрабатывают, как описано в протоколе А, что приводит к получению метил 2-(6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамидо)ацетата.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,02 (шир с, 1H), 4,10 (дд, 1H), 3,92 (дд, 1H), 3,72 (с, 3H), 2,61 (м, 2H), 2,35 (м, 1H), 2,22 (с, 3H), 2,18 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 1,91 (м, 1H), 1,53 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 110 мг (0,344 ммоль) метил 2-(6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамидо)ацетата и 415 мг ЦАН (0,757 ммоль) приводит к получению 94,0 мг метил 2-(2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамидо)ацетата в виде жёлтого порошка.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,41 (т, 1H), 4,05 (кв д, 2H), 3,74 (с, 3H), 3,62 (шир с, 1H), 2,62 (тд, 1H), 2,43 (м, 1H), 2,04 (м, 1H), 1,99 (с, 6H), 1,97 (с, 3H), 1,61 (м, 1H), 1,43 (с, 3H).

Пример 23. N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Раствор 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (500 мг, 2,00 ммоль) в 10 мл

ТГФ обрабатывают 358 мг КДИ и перемешивают в течение 1,25 ч при комнатной температуре. К этому прозрачному жёлтому раствору добавляют раствор 278 мг 1-(3-аминопропил)имидазола в 10 мл ТГФ в течение 1 ч. Раствор перемешивают в течение ночи при комнатной температуре, концентрируют до бледно коричневого масла, растворяют в 70 мл CH_2Cl_2 , промывают 1×50 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Органические слои концентрируют и очищают флэш-хроматографией, что приводит к получению 524 мг N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого кристаллического вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,22 (с, 1H), 7,02 (с, 1H), 6,58 (с, 1H), 6,41 (т, 1H), 3,71 (квинт, 1H), 3,58 (квинт, 1H), 3,37 (сикстет, 1H), 3,02 (сикстет, 1H), 2,34 (дт, 1H), 2,54 (м, 1H), 2,44 (м, 1H), 2,20 (с, 6H), 2,08 (с, 3H), 1,93 (м, 1H), 1,83 (м, 2H), 1,54 (с, 3H).

К раствору N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид (100,7 мг, 0,282 ммоль) в 6 мл AcCN и 6 мл CH_2Cl_2 , охлаждённому до 0°C , по каплям в течение 5 мин добавляют охлаждённый раствор ЦАН (340 мг, 0,620 ммоль) в 2 мл H_2O . Реакционную смесь немедленно обрабатывают 5 мл EtOAc и промывают 3×3 мл H_2O . Водный слой подщелачивают 6 мл насыщенного раствора NaHCO_3 и экстрагируют 6×3 мл EtOAc . Объединённые органические слои сушат над Na_2SO_4 и концентрируют до получения жёлтого масла. Флэш-хроматографией получают 98,1 мг N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,56 (с, 1H), 7,05 (с, 1H), 6,97 (с, 1H), 4,02 (т, 2H), 3,60 (шир с, 1H), 3,29 (м, 2H), 2,60 (тд, 1H), 2,37 (тд, 1H), 2,07-1,92 (м, 12H), 1,63 (м, 1H), 1,41 (с, 3H).

Пример 24. (R)-2-Гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 1,846 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (7,37 ммоль), 1,315 г КДИ (8,11 ммоль) и 991 мг этаноламина приводят к получению 1,765 г (R)-6-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде воскообразного белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,88 (шир с, 1H), 3,63 (тд, 2H), 3,39 (м, 2H), 2,70-2,54 (м, 2H), 2,35 (дт, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,10 (с, 3H), 1,90 (м, 1H), 1,53 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 1,49 г (5,11 ммоль) предшественника (R)-6-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 6,16 г ЦАН (11,2 ммоль) приводит к получению 1,46 г (R)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде воскообразного жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,14 (шир с, 1H), 3,78 (т, 2H), 3,48 (м, 2H), 2,59 (м, 1H), 2,39 (м, 1H), 2,04-1,94 (м, 10H), 1,64 (м, 1H), 1,43 (с, 3H).

Пример 25. 2-Гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 501 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 360 мг КДИ (2,23 ммоль) и 231 мг 2-(2-аминоэтокси)этанола (2,19 ммоль) приводит к получению 557 мг 6-гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде аморфного белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,83 (шир с, 1H), 3,63 (т, 2H), 3,53-3,36 (м, 6H), 2,60 (м, 2H), 2,35 (дт, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,52 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 98,1 мг (0,305 ммоль) 6-гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 368 мг ЦАН (0,671 ммоль) приводит к получению 2-гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26 (т, 1H), 3,82 (шир с, 1H), 3,74 (м, 2H), 3,60 (м, 4H), 3,50 (м, 2H), 2,90 (шир с, 1H), 2,57 (тд, 1H), 2,38 (м, 1H), 2,03-1,93 (м, 10H), 1,61 (м, 1H), 1,41 (с, 3H).

Пример 26. 2-Гидрокси-2-метил-N-(2-(пиридин-2-ил)этил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 499 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (1,99 ммоль), 370 мг КДИ (2,28 ммоль) и 324 мг 2-пиколиламина (3,0 ммоль) приводит к получению 579 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(пиридин-2-илметил)хроман-2-карбоксамид в виде белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,48 (д, 1H), 7,68 (шир с, 1H), 7,58 (тд, 1H), 7,15 (м, 1H), 7,02 (д, 1H), 4,53 (м, 2H), 4,32 (с, 1H), 2,63 (м, 2H), 2,39 (дт, 1H), 2,25 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 1,93 (м, 1H), 1,56 (с, 3H).

Раствор 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(пиридин-2-илметил)хроман-2-карбоксамид (104 мг, 0,307 ммоль) в 4 мл AcCN охлаждают до 0°C и добавляют ЦАН (370 мг в 2 мл H_2O) с последующим добавлением 8 мл EtOAc , 4 мл 1,0 М NaHCO_3 и 250 мг K_2CO_3 . Эмульсию экстрагируют 5×4 мл EtOAc и

объединённые органические слои промывают 2 × 4 мл насыщенного раствора NaCl, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют до получения жёлтого масла. Флэш-хроматографией получают 2-гидрокси-2-метил-N-(пиридин-2-илметил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,51 (д, 1H), 8,02 (т, 1H), 7,65 (тд, 1H), 7,29 (д, 1H), 7,18 (дд, 1H), 4,55 (м, 2H), 4,39 (шир с, 1H), 2,63 (м, 1H), 2,34 (м, 1H), 1,99 (м, 1H), 1,96 (с, 3H), 1,93 (с, 6H), 1,66 (м, 1H), 1,46 (с, 3H).

Пример 27. 2-Гидрокси-2-метил-N-(2-(пиридин-2-ил)этил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Раствор 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (500 мг, 2,0 ммоль) в 10 мл ТГФ обрабатывают 356 мг КДИ (2,2 ммоль). Через 1 ч 366 мг 2-(2-метиламиноэтил)пиридина (3,0 ммоль) в 10 мл ТГФ прибавляют в течение 1 ч и перемешивают в течение ночи. Раствор концентрируют, растворяют в 70 мл CH₂Cl₂, экстрагируют один раз 1,0 М NaHCO₃. Водную фазу вновь экстрагируют 2 × 25 мл CH₂Cl₂ и объединённые органические слои промывают 2 × 25 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na₂SO₄. Раствор концентрируют и очищают флэш-хроматографией, приводящей к получению 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(2-(пиридин-2-ил)этил)хроман-2-карбоксамид.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,43 (д, 1H), 7,52 (т, 1H), 7,12 (м, 2H), 6,98 (д, 1H), 4,27 (с, 1H), 3,69 (кв, 2H), 2,92 (м, 2H), 2,34 (т, 1H), 2,52 (м, 1H), 2,32 (м, 1H), 2,15 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 2,06 (с, 3H), 1,84 (м, 1H), 1,46 (с, 3H).

6-Гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(2-(пиридин-2-ил)этил)хроман-2-карбоксамид (97,7 мг, 0,276 ммоль) растворяют в 3 мл AcCN и 2 мл CH₂Cl₂ и охлаждают до 0°C перед обработкой 332,5 мг ЦАН (0,606 ммоль) в 2 мл H₂O. Реакцию гасят добавлением 5 мл EtOAc и 4 мл 1,0 М NaHCO₃ с последующей экстракцией водного слоя 3 × 5 мл EtOAc. Органические слои вновь экстрагируют 3 × 3 мл насыщенного раствора NaCl, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют. Флэш-хроматография приводит к получению 85,8 мг 2-гидрокси-2-метил-N-(2-(пиридин-2-ил)этил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в качестве жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,53 (д, 1H), 7,65 (т, 1H), 7,48 (шир т, 1H), 7,21 (м, 2H), 3,71 (кв, 2H), 3,04 (т, 2H), 2,52 (м, 1H), 2,34 (м, 1H), 2,00-1,89 (м, 10H), 1,58 (м, 1H), 1,37 (с, 3H).

Пример 28. (S)-2-Гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 5,06 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (20,2 ммоль), 3,68 г КДИ (22,7 ммоль) и 2,44 г этаноламина (39,52 ммоль) приводят к получению 4,576 г (S)-6-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого порошка.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,88 (с, 1H), 3,64 (т, 2H), 3,39 (м, 2H), 2,62 (м, 2H), 2,35 (дт, 1H), 2,18 (с, 6H), 2,10 (с, 3H), 1,90 (м, 1H), 1,53 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 3,50 г (11,93 ммоль) (S)-6-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид и 13,73 г ЦАН (25,06 ммоль) приводит к получению 3,341 г (S)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,24 (т, 1H), 3,75 (т, 2H), 3,47 (м, 2H), 3,29 (с, 2H), 2,58 (тд, 1H), 2,35 (тд, 1H), 2,00-1,94 (м, 10H), 1,61 (тд, 1H), 1,42 (с, 3H).

Пример 29. 2-Гидрокси-2-метил-N-(3-(2-оксопирролидин-1-ил)пропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 499 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,00 ммоль), 357 мг КДИ (2,2 ммоль) и 569 мг 1-(3-аминопропил)пирролидин-2-он (4,0 ммоль) приводят к получению 598 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(3-(2-оксопирролидин-1-ил)пропил)хроман-2-карбоксамид в виде белого порошка.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,02 (т, 1H), 3,31 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 3,11 (м, 2H), 2,59 (м, 2H), 2,37 (м, 3H), 2,24 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 2,01 (м, 2H), 1,87 (м, 1H), 1,61 (м, 4H), 1,51 (с, 3H)

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 113,2 мг (0,302 ммоль) 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(3-(2-оксопирролидин-1-ил)пропил)хроман-2-карбоксамид и 364,6 мг ЦАН (0,665 ммоль) приводит к получению 118 мг 2-гидрокси-2-метил-N-(3-(2-оксопирролидин-1-ил)пропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид в виде жёлтого масла

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,52 (шир т, 1H), 3,41 (квинтет, 4H), 3,26 (м, 2H), 2,58 (тд, 1H), 2,42 (м, 3H), 2,09-1,88 (м, 12H), 1,75 (м, 2H), 1,66 (м, 1H), 1,44 (с, 3H).

Пример 30. 2-Гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 4,98 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (19,9 ммоль), 3,99 г КДИ (24,6 ммоль) и 3,01 г 3-амино-2-пропанола (39,9 ммоль) приводят к получению 5,15 г 6-гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде белого порошка

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,83 (шир с, 1H), 3,8 (м, 1H), 3,39 (м, 1H), 3,11 (м, 1H), 2,62 (м, 2H), 2,38 (дт, 1H), 2,19 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,53 (с, 3H), 1,07 (дд, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 505 мг (1,64 ммоль) 6-гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 1,99 мг ЦАН (3,62 ммоль) приводит к получению 496 мг 2-гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,21 (т, 0,5H), 7,07 (т, 0,5H), 3,98 (м, 1H), 3,52 (м, 1H), 3,15 (м, 1H), 2,61 (м, 1H), 2,42 (м, 1H), 2,04-1,91 (м, 10H), 1,63 (м, 1H), 1,42 (с, 1H), 1,24 (м, 3H)

Пример 31. 2-Гидрокси-N-(6-гидроксигексил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 356 мг КДИ (2,2 ммоль) и 468 мг 6-амино-1-гексанола (4,0 ммоль) приводит к получению 161 мг 6-гидрокси-N-(6-гидроксигексил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде белого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,35 (т, 1H), 3,56 (т, 2H), 3,53 (секстет, 1H), 3,05 (секстет, 1H), 2,58 (м, 2H), 2,42 (дт 1H), 2,19 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,83 (м, 1H), 1,53 (с, 3H), 1,53-1,29 (м, 5H), 1,20 (м, 2H), 0,99 (м, 2H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 64,2 мг (0,183 ммоль) 6-гидрокси-N-(6-гидроксигексил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 230 мг ЦАН (0,419 ммоль) приводит к получению 40 мг 2-гидрокси-N-(6-гидроксигексил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,86 (т, 1H), 3,64 (т, 2H), 3,28 (кв, 2H), 2,54 (м, 1H), 2,39 (м, 1H), 2,04-1,99 (м, 10H), 1,55 (м, 7H), 1,38 (м, 5H).

Пример 32.

2-Гидрокси-2-метил-N-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид (правильное название)

2-Гидрокси-N-(6-гидроксигексил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 496 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (1,98 ммоль), 376 мг КДИ (2,32 ммоль) и 404 мг тетрагидрофурамина (4,0 ммоль) приводит к получению 408 мг неочищенного 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)хроман-2-карбоксамида, который окисляют в соответствии с протоколом В в присутствии 335 мг ЦАН (0,612 ммоль) для получения 74,7 мг 2-гидрокси-2-метил-N-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,16 (м, 1H), 3,98 (м, 1H), 3,87 (м, 1H), 3,76 (кв, 1H), 3,56 (м, 1H), 3,3 (д, 1H), 3,20 (м, 1H), 2,59 (м, 1H), 2,40 (м, 1H), 1,99 (м, 10H), 1,89 (кв, 2H), 1,56 (м, 2H), 1,42 (с, 3H).

Пример 33. 2-Гидрокси-2-метил-N-(3-морфолинопропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

К раствору 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (511 мг, 2,1 ммоль) в 10 мл ТГФ добавляют 356 мг КДИ и перемешивают в течение 2 ч. 3-Морфолинопропиламин (438 мкл, 432 мг, 3,0 ммоль) в 10 мл ТГФ добавляют по каплям и перемешивают в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют, растворяют в 70 мл CH₂Cl₂, органическую фазу промывают один раз 50 мл насыщенного раствора NaCl, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют до получения коричневого масла.

Флэш-хроматографией получают 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(3-морфолинопропил)хроман-2-карбоксамид в виде бледно коричневого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,57 (шир с, 1H), 4,38 (шир с, 1H), 3,68 (шир с, 4H), 3,64 (м, 1H), 3,21 (м, 1H), 1,57 (м, 2H), 2,42-2,30 (м, 5H), 2,19 (с, 3H), 2,17 (с, 3H), 2,09 (с, 3H), 1,84 (м, 1H), 1,61 (м, 4H), 1,52 (с, 3H). LRMS, APCI, (M⁺+1) 377.

К раствору, содержащему 100 мг (0,266 ммоль) 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-N-(3-морфолинопропил)хроман-2-карбоксамида в 5 мл AcCN и одну каплю воды при 0°C, по каплям добавляют раствор 320,3 мг ЦАН (0,584 ммоль) в 3 мл H₂O. Раствор обрабатывают 5 мл EtOAc и 5 мл насыщенного раствора NaCl с последующим добавлением ~1 г NaHCO₃ и энергичным перемешиванием в течение 1 ч. Затем суспензию экстрагируют 3×5 мл раствором изопропиловый спирт:изопропилацетат (4:1) и объединённые органические слои сушат над Na₂SO₄, концентрируют до получения коричневого масла и подвергают флэш-хроматографии для получения 16 мг 2-гидрокси-2-метил-N-(3-морфолинопропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде темно жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,75 (т, 1H), 3,74 (м, 4H), 3,36 (м, 2H), 2,53 (м, 4H), 2,40 (дт, 1H), 2,00 (с, 3H), 1,99 (с, 3H), 1,97 (с, 3), 1,95 (м, 1H), 1,75 (м, 2H), 1,58 (м, 1H), 1,39 (с, 3H).

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 187,6, 187,4, 175,5, 143,3, 140,95, 140,91, 140,2, 75,1, 66,5, 57,6, 53,6, 38,9, 38,6, 27,1, 25,0, 21,1, 12,4, 21,2, 12,0.

Пример 34. 2-Гидрокси-N-метокси-N,2-диметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

К раствору 5,47 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (21,9 ммоль) в 170 мл ТГФ добавляют 3,92 г КДИ (24,2 ммоль) и перемешивают в течение 1,25 ч при комнатной температуре. К нему по каплям в течение 1 ч добавляют раствор 2,14 г N,O-диметилгидроксиламингидрохлорида (21,97 ммоль) и 8,2 г N,N-диизопропилэтиламина в 50 мл CH₂Cl₂. Реакционную смесь перемешивают в течение ночи, концентрируют, добавляют 250 мл CH₂Cl₂ и последовательно промывают 100 мл 0,625 М HCl, 100 мл 1,0 NaHCO₃ и 100 мл насыщенного раствора NaCl. Органические слои сушат над Na₂SO₄, концентрируют и очищают флэш-хроматографией для получения 4,43 г 6-гидрокси-N-метокси-N,2,5,7,8-пентаметилхроман-2-карбоксамида в виде не совсем белого кристаллического твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,63 (с, 3H), 3,31 (с, 3H), 2,74-2,55 (м, 3H), 2,18 (с, 3H), 2,16 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 1,73 (м, 1H), 1,59 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 155 мг (0,528 ммоль) 6-гидрокси-N-метокси-N,2,5,7,8-пентаметилхроман-2-карбоксамида и 637 мг ЦАН (1,16 ммоль) приводит к получению 119,4 мг 2-гидрокси-N-метокси-N,2-диметил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,80 (с, 3H), 3,25 (с, 3H), 2,55 (дт, 1H), 2,37 (дт, 1H), 2,03 (с, 3H), 1,99 (м, 7H), 1,68 (дт, 1H), 1,48 (с, 3H).

Пример 35. 2-Гидрокси-N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

К раствору 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (500 мг, 2,00 ммоль) в 10 мл ТГФ добавляют 356 мг КДИ (2,20 ммоль). После перемешивания в течение 1,5 ч добавляют раствор диэтиламина (231 мг, 2,2 ммоль) в 10 мл ТГФ в течение 1 ч и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют, растворяют в 70 мл CH₂Cl₂ и последовательно промывают 50 мл 0,62 М HCl, 50 мл 1,0 М NaHCO₃, 50 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na₂SO₄. Объединённые водные фазы экстрагируют 3 × 50 мл раствора изопропиловый спирт/изопропилацетат (3:1), который сушат и концентрируют до получения коричневого масла. Флэш-хроматографией получают 63 мг 6-гидрокси-N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида в виде жёлтого масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,35 (с, 1H), 4,11 (м, 1H), 3,91 (шир м, 1H), 3,81-3,65 (шир м, 4H), 3,51 (шир с, 2H), 2,71-2,57 (м, 4H), 2,16 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,74 (м, 1H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 68,4 мг (0,203 ммоль) предшественника 6-гидрокси-N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида и 244 мг ЦАН (0,446 ммоль) приводит к получению 18,4 мг 2-гидрокси-N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого масла (25,7%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,0-3,5 (м, 8H), 2,56 (тд, 1H), 2,42 (тд, 1H), 2,04 (с, 3H), 2,00 (с, 3H), 1,98 (с, 3H), 1,67 (м, 1H), 1,51 (с, 3H).

Пример 36. N-(4-Гидроксибензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 500 мг 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (2,0 ммоль), 356 мг КДИ (2,2 ммоль) и 548 мг тирамина (4,0 ммоль) приводит к получению 537,8 мг 6-гидрокси-N-(4-гидроксибензил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида, в виде коричневого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, d₆-DMSO) δ 9,16 (с, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,17 (т, 1H), 6,84 (д, 2H), 6,60 (д, 2H), 3,24 (кв, 2H), 2,50 (м), 2,37 (м, 1H), 2,14 (м, 1H), 2,10 (с, 3H), 2,01 (с, 3H), 1,99 (с, 3H), 1,69 (м, 1H), 1,32 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 100 мг 6-гидрокси-N-(4-гидроксибензил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида (0,271 ммоль) и 325 мг ЦАН (0,595 ммоль) приводит к получению 15 мг N-(4-гидроксибензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, d₄-MeOH) δ 7,75 (т, 1H), 7,00 (д, 2H), 6,63 (д, 2H), 3,34 (м, 2H), 2,68 (т, 2H), 2,54 (м, 1H), 2,12 (м, 1H), 1,93 (с, 6H), 1,90 (с, 3H), 1,78 (тд, 1H), 1,48 (м, 1H), 1,28 (с, 3H).

Пример 37. N-(2-(Диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид.

Аналогично процедуре амидной конденсации, описанной в протоколе А, взаимодействие 1,03 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (4,11 ммоль), 0,712 г КДИ (4,39 ммоль) и 704 мг N,N-диметилендиэтиламина (7,99 ммоль) приводит к получению 1 г N-2-(диметиламино)этил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида, в виде белого кристаллического твёрдого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,10 (шир с, 1H), 4,28 (шир с, 1H), 3,22 (м, 2H), 2,60 (м, 2H), 2,33 (м, 2H), 2,23 (м, 6H), 2,09 (с, 9H), 1,89 (м, 1H), 1,52 (с, 3H).

Окисление, описанное в протоколе В, при использовании 150 мг N-2-(диметиламино)этил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамида (0,468 ммоль) и 564 мг ЦАН (1,03 ммоль) проведено

со следующими исключениями. Водную фазу подщелачивают NaHCO_3 (насыщенным), экстрагируют EtOAc и объединённые органические слои сушат Na_2SO_4 , концентрируют и упаривают для получения 131 мг (83 %) N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида в виде жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,62 (т, 1H), 3,48 (кв, 2H), 2,63 (м, 3H), 2,37 (с, 6H), 2,30 (тд, 1H), 1,96 (м, 10H), 1,57 (м, 1H), 1,41 (с, 3H)

Пример 38. N-(2-(Диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида гидрохлорид

Раствор 22,8 мг исходного хинона в 2 мл MeOH обрабатывают 20 мкл 4,0 М HCl в растворе диоксана. Через 5 мин жёлтый раствор концентрируют, вновь растворяют в 0,2 мл MeOH и растирают в порошок в большом избытке Et_2O , концентрируют через час и добавляют свежеперегранный Et_2O . Через 72 ч реакционную смесь фильтруют и собирают жёлтый твёрдый N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида гидрохлорид (15,6 мг).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,09 (с, 1H), 5,02 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,59 (т, $J=5,6$ Гц, 2H), 4,09 (с, 6H), 3,94 (тд, 1H), 3,67 (тд, 1H), 3,26 (с, 3H), 3,23 (с, 6H), 3,07 (тд, 1H), 2,91 (тд, 1H), 2,64 (с, 3H)

Пример 39. N-(2-(Диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида мезилат

N-(2-(Диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида (25 мг) растворяют в 1 мл CH_2Cl_2 и 5,2 мкл чистой метансульфоновой кислоты и добавляют к перемешиваемому жёлтому раствору. Раствор концентрируют, растворяют в CH_2Cl_2 и растирают в порошок в Et_2O для получения 20 мг N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида мезилата в виде жёлтого гигроскопического твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,9 (т, 1H), 3,87 (м, 1H), 3,6 (м, 1H), 3,32 (м, 1H), 2,96 (с, 3H), 2,95 (с, 3H), 2,80 (с, 3H), 2,65 (тд, 1H)

Пример 40. N-(2-(Диметиламино)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида

N-(2-(Диметиламино)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида получают, используя процедуру, описанную в примере 37, с заменой N,N-диметилендиэтиламина N^1, N^1 -диметилпропан-1,3-диамином

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,2 (т, 1H), 3,36 (м, 1H), 3,2-3,3 (м, 3H), 2,93 (с, 6H), 2,6 (м, 1H), 2,35 (м, 1H), 2,06 (м, 2H), 2,00 (с, 3H), 1,98 (с, 3H), 1,95 (с, 3H), 1,82 (тд, 1H), 1,62 (тд, 1H), 1,43 (с, 3H)

Пример 41. 6,6'-(4,4'-(пиперазин-1,4-диил)бис(3-гидрокси-3-метил-4-оксобутан-4,1-диил))бис(2,3,5-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион)

Раствор 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (5,0 г, 20 ммоль), пиридина (50 мл) и уксусного ангидрида (43 мл) перемешивают в течение 5 ч. Добавляют воду и смесь экстрагируют метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЕ) (2×100 мл) и объединённые органические слои промывают водой (2×200 мл), раствором сульфата меди (2×200 мл) и, наконец, насыщенным соевым раствором (2×50 мл). Органический слой собирают, сушат над сульфатом натрия и обесцвечивают при помощи активированного угля и концентрируют до получения светло-зелёной пены. Неочищенный материал вновь растворяют в CH_2Cl_2 (50 мл) и диметилформамиде (2 капли), после чего добавляют по каплям оксалилхлорид (1,9 мл). Наблюдается немедленное выделение газа. Смесь перемешивают в атмосфере воздуха в течение 2 часов и растворитель удаляют, что приводит к получению 2-(хлоркарбонил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетата (3,9 г, 13 ммоль), который используют без дополнительной очистки.

2-(Хлоркарбонил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетат (3,9 г, 13 ммоль) в CH_2Cl_2 (25 мл) обрабатывают диизопропилэтиламино (DIEA) (5,0 мл), а затем пиперазином (0,48 г, 5,6 ммоль). Реакционная смесь в течение короткого периода закипает при добавлении пиперазина. Реакционной смеси дают остыть до температуры окружающей среды и перемешивают в течение 16 ч. Затем смесь выливают в МТБЕ (100 мл), органический слой отделяют и промывают насыщенным раствором хлорида аммония (3×50 мл), затем сушат над сульфатом натрия. Растворитель удаляют для получения 2,2'-(пиперазин-1,4-диил)бис(оксометилен)бис(2,5,7,8-тетраметил-3,4,5,8-тетрагидро-2H-хромен-6,2-диил)диацетата (3,7 г, 5,8 ммоль) в виде аморфного несовсем белого твёрдого вещества, которое используют непосредственно без дополнительной очистки.

К раствору 2,2'-(пиперазин-1,4-диил)бис(оксометилен)бис(2,5,7,8-тетраметил-3,4,5,8-тетрагидро-2H-хромен-6,2-диил) диацетата (2,36 г), ТГФ (25 мл) и MeOH (10 мл) добавляют КОН (1,04 г в виде раствора в 10 мл MeOH). Реакционную смесь перемешивают при температуре окружающей среды в течение 16 ч, после чего она полностью растворяется. Затем к перемешиваемой реакционной смеси добавляют ЦАН (9,16 г, 16,7 ммоль) в виде водного раствора (50 мл). Через 1 ч добавляют воду (50 мл), что приводит к образованию бежевого осадка. Надосадочную жидкость декантируют и экстрагируют МТБЕ. Растворитель удаляют в вакууме для получения жёлтого продукта, который очищают флэш-хроматографией, элюируя EtOAc /гексаном (30-100%) для получения 6,6'-(4,4'-(пиперазин-1,4-диил)бис(3-

гидрокси-3-метил-4-оксобутан-4-диил)бис(2,3,5-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-диона) в виде тяжёлого аморфного жёлтого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 5,50 (шир с, 2H), 3,95 (шир с, 4H), 2,50-3,28 (шир м, 6H), 2,50-2,40 (м, 4H), 2,02-1,90 (м, 18H), 1,75 (шир м, 2H), 1,59 (шир м, 2H), 1,36 (с, 6H).

Пример 42. 2-(3-Гидрокси-3-метил-4-оксо-4-(пиперидин-1-ил)бутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион

6-Гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту (1,005 г, 4,00 ммоль) в 22 мл ТГФ обрабатывают 722,8 мг КДИ (4,4 ммоль) и перемешивают в течение 2 ч при комнатной температуре. Затем бледно-жёлтый раствор обрабатывают 450 мкл (381 мг, 4,47 ммоль) пиперидина в 22 мл ТГФ порциями по 1-2 мл в течение 2 ч. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрируют и осадок растворяют в 100 мл CH_2Cl_2 и последовательно промывают 50 мл 0,25 М HCl , 50 мл 1,0 М NaHCO_3 , 50 мл насыщенного раствора NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Органическую фазу концентрируют. Флэш-хроматографией получают 992 мг (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(пиперидин-1-ил)метанола в виде не совсем белого твёрдого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,42 (с, 1H), 3,95-3,83 (шир м, 2H), 3,46 (шир с, 2H), 2,77 (м, 1H), 2,63-2,52 (м, 2H), 2,16 (с, 3H), 2,15 (с, 3H), 2,08 (с, 3H), 1,70 (м, 1H), 1,58-1,48 (м, 2H), 1,45-1,36 (шир с, 2H).

Раствор 319 мг (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-ил)(пиперидин-1-ил)метанола (1,02 ммоль) в 5 мл МТВЕ обрабатывают 1,077 г $\text{FeCl}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ в 6 мл H_2O . Реакционная смесь быстро становится чёрной, которая выпадает в жёлтый цвет во время протекания реакции. Добавляют дополнительно 2 мл МТВЕ и тщательно перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь гасят 10 мл H_2O и 10 мл МТВЕ, слои разделяют и органический слой промывают H_2O до обесцвечивания. Объединённые водные слои экстрагируют 2 \times 10 мл МТВЕ и объединённые органические слои промывают насыщенным раствором NaCl и сушат над Na_2SO_4 . Флэш-хроматографией получают 335 мг 2-(3-гидрокси-3-метил-4-оксо-4-(пиперидин-1-ил)бутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-диона в виде тёмно-жёлтого масла.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 5,14 (с, 1H), 3,65-3,45 (шир м, 4H), 2,48 (тд, 1H), 2,36 (дт, 1H), 1,97 (с, 3H), 1,94 (с, 6H), 1,88 (м, 1H), 1,68-1,57 (м, 7H), 1,42 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 187,4, 187,1, 173,4, 143,4, 140,6, 140,5, 140,1, 73,3, 38,9, 26,2, 25,9, 24,3, 21,3, 12,3, 12,2, 11,8.

Пример 43. N-Гексил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид

6-Гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту (5,0 г, 19,99 ммоль) растворяют в пиперидине (18 мл) и добавляют Ac_2O (10 мл) одной порцией.

Экзотермическую реакционную смесь нагревают до 40°C, охлаждают для комнатной температуры и перемешивают в течение ночи. Неочищенную реакционную смесь гасят 100 мл H_2O , перемешивают в течение 1 ч, после чего дополнительно добавляют 100 мл H_2O и перемешивают в течение 1 ч. Образующийся мелкий белый осадок 6-ацетокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты собирают фильтрованием (4,544 г).

Неочищенную 6-ацетокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту растворяют в 30 мл CH_2Cl_2 , дополнительно добавляют 2 капли ДМФ и далее медленно добавляют 1,5 мл оксалилхлорида. В течение 1 ч выделяется газ и раствор перемешивают в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрируют, разделив на пять равных частей 2-(хлоркарбонил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетата.

К одной из вышеуказанных частей неочищенного 2-(хлоркарбонил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетата в 10 мл CH_2Cl_2 добавляют 1,0 мл диизопропилэтиламина и далее 315 мг 1-гексиламина и перемешивают в течение ночи. Реакционную смесь выливают в 1,0 М раствор лимонной кислоты и добавляют 50 мл EtOAc . Органический слой отделяют и очищают флэш-хроматографией с получением 781 мг 2-(гексилкарбамоил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетата в виде прозрачного сиропа.

МС (m/z): M^+ 376,3

Неочищенный 2-(гексилкарбамоил)-2,5,7,8-тетраметилхроман-6-ил ацетат (187 мг, 0,25 ммоль) в 1,25 мл MeOH обрабатывают 33,7 мг (0,625 ммоль) NaOMe и оставляют при перемешивании на ночь. Затем перемешиваемый коричневый раствор разбавляют водой (10 мл), нейтрализуют 2,5 М HCl (1,5 мл) и добавляют 10 мл EtOAc . Слои разделяют и органический слой сушат над Na_2SO_4 и концентрируют. Флэш-хроматографией получают 90 мг N-гексил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,46 (т, 1H), 4,76 (с, 1H), 3,20 (м, 2H), 2,58 (м, 3H), 2,18 (с, 6H), 2,09 (с, 3H), 1,88 (м, 1H), 1,51 (с, 3H), 1,38 (м, 2H), 1,25-1,11 (м, 6H), 0,85 (т, 3H).

Раствор 75 мг N-гексил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид (0,225 ммоль) в 2 мл МТВЕ обрабатывают 2,0 мл 0,5 М $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ и интенсивно перемешивают в течение 24 ч. Раствор обрабатывают 5 мл H_2O и 10 мл МТВЕ, слои разделяют и органические слои промывают 2 \times 5 мл H_2O , 2 \times 5 мл насыщенного раствора NaCl . Объединённые органические слои сушат над Na_2SO_4 и концентрируют. Флэш-хроматографией получают N-гексил-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксамид в виде оранжево-коричневого масла, которое повторно хроматографируют для получения 31 мг ярко жёлтого

масла.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,82 (т, 1H), 3,48 (с, 1H), 3,22 (кв, 2H), 2,55 (м, 1H), 2,36 (м, 1H), 2,04-1,96 (м, 10H), 1,61-1,46 (м, 3H), 1,38 (с, 3H), 1,33-1,22 (м, 6H), 0,84 (т, 3H).

Биологические примеры

Пример А. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах кожи человека у пациентов с атаксией Фридрайха

Первоначальный скрининг проводят для идентификации соединений, эффективных для улучшения состояния при окислительно-восстановительных нарушениях. Опытные образцы, 4 контрольных препаратов (идебенон, дециллубихинон, Тролокс и α-токоферол ацетат), и контрольные растворители испытывают на их способность восстанавливать FRDA фибробласты, подвергнутые напряжению, добавлением L-бутионин-(S,R)-сульфоксимином (BSO), как описано в Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24): 3055 (2002), Jauslin et al., FASEB J. 17: 1972-4 (2003), и в Международной Заявке на Патент WO 2004/003565. Показано, что фибробласты кожи человека у пациентов с атаксией Фридрайха гиперчувствительны к ингибированию *de novo* синтеза глутатиона (GSH) под действием L-бутионин-(S,R)-сульфоксимином (BSO), специфического ингибитора GSH синтетазы (Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24): 3055 (2002)). Такая специфическая гибель клеток, опосредованная BSO, может быть предотвращена введением антиоксидантов или молекул, участвующих в антиоксидантном пути, например α-токоферола, селена или малых молекул, имитирующих глутатионпероксидазу. Однако антиоксиданты различаются по своей эффективности, т.е. концентрации, при которой они способны восстанавливать FRDA фибробласты, подвергнутые стрессу со стороны BSO.

MEM (среда, обогащенная аминокислотами и витаминами, каталог № 1-31F24-I) и Среда 199 (M199, каталог №1-21F22-I) вместе с сбалансированным солевым раствором Эрла, не содержащая фенолового красного, получена от Biosconcept. Сыворотка эмбрионов крупного рогатого скота получена от PAA Laboratories. Основной фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста получены от PerigoTech. Смесь пенициллин-стрептомицин-глутамин, L-бутионин (S,R)-сульфоксимином, (+)-α-токоферол ацетат, дециллубихинон и инсулин из бычьей поджелудочной железы получены от Sigma. Тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) получены от Fluka. Идебенон получен от Chemo Iberica. Кальцеин АМ получен от Molecular Probes. Среда для культуры клеток приготовлена смешиванием 125 мл M199 EBS, 50 мл сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамина, 10 мкг/мл инсулина, 10 нг/мл EGF и 10 нг/мл bFGF; MEM EBS добавляют для доведения объема до 500 мл. 10 мМ раствор BSO получают растворением 444 мг BSO в 200 мл среды с последующей стерилизацией фильтрованием. В процессе экспериментов этот раствор хранят при +4°C. Клетки получают от Coriell Cell Repositories (Camden, NJ; архивный номер GM04078) и выращивают в 10-сантиметровых планшетах для тканевых культур. Каждый третий день их делят на части в отношении 1:3.

Опытные образцы помещают в стеклянные флаконы на 1,5 мл. Соединения разбавляют ДМСО, этанолом или PBS для получения 5 мМ базового раствора. Сразу после растворения их хранят при -20°C. Эталонные антиоксиданты (идебенон, дециллубихинон, α-токоферол ацетат и Тролокс) растворяют в ДМСО.

Проводят скрининг опытных образцов согласно следующему протоколу: культуру FRDA фибробластов выращивают во флаконе на 1 мл, исходя приблизительно из 500,000 клеток, хранящихся в жидком азоте. Клетки репродуцируют в 10 см планшетах клеточных культур расщеплением каждый третий день в отношении 1:3 до тех пор, пока девять планшетов не становятся доступными. Сразу же после слияния, фибробласты собирают. Для 54 микротитровальных планшетов (96-луночный-МТР) суммарное количество, равное 14,3 млн клеток (путь восемь) ресуспендируют в 480 мл среды, что соответствует 100 мкл среды с 3,000 клеток/лунка. Остальные клетки распределяют в 10 см планшетах для клеточных культур (500,000 клеток/планшет) для выращивания. Планшеты инкубируют в течение ночи при 37°C на воздухе с 95% влажностью и с 5% CO₂ для того, чтобы обеспечить прикрепление клеток к культуральному планшету.

МТР среду (243 мкл) добавляют в лунки микротитровальных планшетов. Испытуемые соединения размораживают и 7,5 мкл 5 мМ базового раствора растворяют в лунке, содержащей 243 мкл среды, что приводит к получению 150 мкМ исходного раствора. Проводят последовательное разведение из исходного раствора. Период времени между отдельными стадиями разбавления выдерживают, насколько это возможно, наиболее коротким (обычно менее 1 с).

Планшеты оставляют на ночь в инкубаторе клеточных культур. На следующий день в лунки добавляют по 10 мкл 10 мМ раствора BSO, что приводит к получению раствора BSO с конечной концентрацией, равной 1 мМ. Через 48 ч три планшета рассматривают под фазово-контрастным микроскопом для того, чтобы убедиться, что клетки в 0% контроле (лунки E1-H1) несомненно погибли. Среду из всех планшетов удаляют и оставшуюся жидкость удаляют лёгким постукиванием планшета, перевернутым на бумажное полотенце.

Затем в каждую лунку добавляют по 100 мкл PBS, содержащий 1,2 мкМ Кальцеина АМ. Планшеты

инубируют в течение 50-70 мин при комнатной температуре. После этого удаляют PBS, планшет легко постукивают на бумажном полотенце и на аппарате для чтения флуоресцентных данных Gemini считывают показания флуоресценции (длины волн при 485 нм и 525 нм, соответствующие возбуждению/эмиссии). Данные импортируют на Microsoft Excel (EXCEL является зарегистрированным торговым наименованием Microsoft Corporation для программы табличных вычислений) и используют для расчёта концентрации EC₅₀ для каждого соединения.

Соединения тестируют три раза, т.е. эксперимент проводят три раза, причём количество пассажей клеток увеличивается на один при каждом повторении.

Растворители (DMCO, этанол, PBS) как не оказывают отрицательного влияния на жизнеспособность клеток, не обработанных BSO, так и не оказывают благотворного влияния на фибробласты, обработанные BSO, даже при наиболее высоких испытуемых концентрациях (1%). Ни одно из этих соединений не обладает автофлуоресценцией. Жизнеспособность фибробластов, не обработанных BSO, принимают за 100%, и жизнеспособность клеток, обработанных BSO и соединениями настоящего изобретения рассчитывают относительно этой величины. В следующей таблице суммированы данные по EC₅₀ для четырёх контрольных соединений.

Соединение	EC ₅₀ [мкМ]				
	значение 1	значение 2	значение 3	Среднее	Стат. откл.
децилбихинон	0,05	0,035	0,03	0,038	0,010
альфа-токоферол ацетат	0,4	0,15	0,35	0,30	0,13
идебенон	1,5	1	1	1,2	0,3
тролокс	9	9	8	8,7	0,6

Некоторые соединения настоящего изобретения, такие как:

2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(3-гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(4-гидоксибутил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

(R)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

(S)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтокси)этил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(3-гидрокси-3-метил-4-(4-метилпиперазин-1-ил)-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-(4-(4-бензилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-гидрокси-2-метил-N-(3-морфолинопропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(4-гидроксибензил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

6,6'-(4,4'-(пиперазин-1,4-диил)бис(3-гидрокси-3-метил-4-оксобутан-4,1-диил))бис(2,3,5-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион);

N-(3-(диметиламино)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 2-(3-гидрокси-3-метил-4-оксо-4-(пиперазин-1-ил)бутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 (R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 (S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 (R)-2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 (S)-2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 (R)-2-(3-гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 (S)-2-(3-гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 N-(2-фторфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-фторфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(4-метоксифенил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 проявляют выраженный защитный эффект против FRDA при EC₅₀ менее, чем приблизительно 100 нМ.

Пример В. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах у пациентов с болезнью Хантингтона

Испытание соединений настоящего изобретения проводят при использовании скрининга, как описано в примере А, заменяя клетки FRDA клетками Хантингтона от Coriell Cell Repositories (Camden, NJ; архивный номер GM 04281). Соединения проверяют на их способность спасать кожные фибробласты человека у пациентов болезни Хантингтона от окислительного стресса.

Некоторые соединения настоящего изобретения, такие как:

2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

проявляют защитный эффект против против болезни Хангтингтона при EC₅₀ менее чем приблизительно 100 нМ.

Пример С. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах у пациентов с наследственной оптической нейропатией Лебера

Соединения настоящего изобретения подвергаются скринингу, как описано в примере А, но заменив клетки FRDA клетками наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON), полученные от Coriell Cell Repositories (Camden, NJ; архивный номер GM03858). Соединения испытывают на их способность избавлять кожные фибробласты человека пациентов, страдающих LHON, от окислительного стресса.

Некоторые соединения настоящего изобретения, такие как:

2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(3-гидрокси-3-метил-4-оксо-4-(пиперидин-1-ил)бутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-(4-(азепан-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

N-гексил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

N-бензил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(3-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-изопентил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(4-гидроксибутил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(1-гидроксипропан-2-ил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(2-гидроксипропил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(4-(4-бензилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-N-(4-гидроксибензил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

6,6'-(4,4'-(пиперазин-1,4-диил)бис(3-гидрокси-3-метил-4-оксобутан-4,1-диил))бис(2,3,5-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион);

2-гидрокси-2-метил-N-(пиридин-4-илметил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-2-метил-N-(пиридин-3-илметил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-гидрокси-2-метил-N-(3-метилсульфонил)пропил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-(4-(4,4-дифторпиперидин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

2-(4-(4-бензоилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

(R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

(S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

(R)-2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

(S)-2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

(R)-2-(3-гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

(S)-2-(3-гидрокси-4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;

N-(2-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

N-(3-фторфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорбензил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

проявляют защитный эффект против против LNON при EC₅₀ менее чем приблизительно 100 нМ.

Пример D. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах у пациентов с болезнью Паркинсона

Соединения настоящего изобретения подвергают скринингу, как описано в примере А, но заменив клетки FRDA клетками с болезнью Паркинсона (PD), полученными от Coriell Cell Repositories (Camden, NJ; архивный номер AG20439). Соединения испытывают на их способность избавлять кожные фибробласты человека у пациентов, страдающих болезнью Паркинсона, от окислительного стресса.

Некоторые соединения настоящего изобретения, такие как:

2-гидрокси-N-изопропил-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(5-гидроксипентил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 (R)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 (S)-2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(2-(2-гидроксиэтокси)этил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-(4-(4-бензилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-N-(4-гидроксифенетил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(3-(диметиламино)пропил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

проявляют защитный эффект против против БП при EC₅₀ менее чем приблизительно 100 нМ.

Пример E. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах у пациентов с дефицитом CoQ10

Соединения настоящего изобретения подвергают скринингу, как описано в примере А, но заменив клетки FRDA клетками, полученными от больных с дефицитом CoQ10, со скрытой мутацией CoQ2. Соединения испытывают на их способность избавлять кожные фибробласты человека у пациентов с дефицитом CoQ10 от окислительного стресса.

2-гидрокси-N-(2-гидроксиэтил)-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

N-гексил-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-(диметиламино)этил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-гидрокси-2-метил-N-(пиридин-3-илметил)-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 2-(4-(4-ацетилпиперазин-1-ил)-3-гидрокси-3-метил-4-оксобутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 2-(3-гидрокси-3-метил-4-оксо-4-(пиперазин-1-ил)бутил)-3,5,6-триметилциклогекса-2,5-диен-1,4-дион;
 трет-бутил 4-(2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутаноил)пиперазин-1-карбоксилат;
 (S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(2-хлорфенетил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-фторфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;
 N-(4-хлорфенил)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамид;

проявляют защитный эффект против дефицита CoQ10 при EC₅₀ менее чем приблизительно 100 нМ.
 Пример F. Скрининг соединений настоящего изобретения на фибробластах у пациентов с аутизмом
 Скрининг проводят для идентификации соединений, эффективных для улучшения состояния ASD.
 Опытные образцы и контрольные растворители испытывают на их способность восстанавливать ASD фибробласты, подвергнутые стрессу добавлением L-бутионин-(S,R)-сульфоксимином (BSO).

MEM (среда, обогащенная аминокислотами и витаминами, каталог № Gibco 11965) и сыворотку эмбрионов крупного рогатого скота получают от Invitrogen. Основной фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста получают от PerproTech. Смесь пенициллина-стрептомицина-глутамин, L-бутионин (S,R)-сульфоксимин и инсулин из бычьей поджелудочной железы получают от Sigma. Кальцеин AM получают от Molecular Probes. Среду клеточной культуры (АТФ) готовят смешением 75 мл сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамин, 10 нг/мл EGF и 10 нг/мл bFGF; MEM EBS добавляют для доведения объёма до 500 мл. 10 мМ раствора BSO получают растворением 444 мг BSO в 200 мл среды с последующей стерилизацией путём фильтрации. Во время экспериментов раствор хранят при +4°C. Клетки, полученные от Dr. J.M. Shoffner, Medical Neurogenetics, Atlanta, Ga, выращивают в 10 см-х планшетах для культуры тканей. Каждую неделю их делят в отношении 1:3. Образцы доставляют в стеклянных флаконах на 1,5 мл. Соединения разбавляют ДМСО, этанолом или PBS для получения 5 мМ базового раствора. Сразу же после растворения их хранят при -20°C.

Проводят скрининг образцов согласно следующему протоколу:

Начинают с культуры с ASD фибробластами из флакона на 1 мл, содержащего приблизительно 500,000 клеток, хранящихся в жидком азоте. Клетки выращивают в 10 см культуральных планшетах, расщепляя их каждую неделю в отношении 1:3 до тех пор, пока не будут доступны девять планшетов. Как только клетки сольются, фибробласты собирают. Для 54 микротитровальных планшетов (96-луночный МТР) всего 14,3 млн клеток (пассаж восемь) ресуспендируют в 480 мл среды, что соответствует 100 мкл среды, содержащей 3,000 клеток/лунка. Остальные клетки распределяют в 10 см культуральных планшетах (500,000 клеток/планшет) для выращивания. Планшеты инкубируют в течение ночи при 37°C на воздухе при 95% влажности и 5% CO₂ для того, чтобы обеспечить прикрепление клеток к культуральному планшету.

МТР среду (243 мкл) добавляют в лунки микротитровальных планшетов. Испытуемые соединения размораживают и 7,5 мкл 5 мМ базового раствора растворяют в лунке, содержащей 243 мкл среды, что приводит к получению 150 мкМ исходного раствора. Проводят последовательное разведение из исходного раствора. Период времени между отдельными стадиями разбавления выдерживают, насколько это возможно, наиболее коротким (обычно менее 1 с).

Планшеты оставляют на ночь в инкубаторе клеточных культур. На следующий день в лунки добавляют по 10 мкл 10 мМ раствора BSO, что приводит к получению раствора BSO с конечной концентрацией, равной 1 мМ. Через 48 ч три планшета рассматривают под фазово-контрастным микроскопом для того, чтобы убедиться, что клетки в 0% контроле (лунки E1-H1) несомненно погибли. Среду из всех планшетов удаляют и оставшуюся жидкость удаляют лёгким постукиванием планшета, перевёрнутым на бумажное полотенце.

Затем в каждую лунку добавляют по 100 мкл PBS, содержащего 1,2 мкМ Кальцеина AM. Планшеты инкубируют в течение 50-70 мин при комнатной температуре. После этого удаляют PBS, планшет легко постукивают на бумажном полотенце и на аппарате для чтения флуоресцентных данных Gemini считы-

вают показания флуоресценции (длины волн при 485 и 525 нм, соответствующие возбуждению/эмиссии). Данные импортируют на Microsoft Excel (EXCEL является зарегистрированным торговым наименованием Microsoft Corporation для программы табличных вычислений) и используют для расчёта концентрации EC_{50} для каждого соединения.

Соединения тестируют три раза, т.е., эксперимент проводят три раза, причём количество пассажей клеток увеличивается на один при каждом повторении.

Растворители (ДМСО, этанол, PBS) как не оказывают отрицательного влияния на жизнеспособность клеток, не обработанных BSO, так и не оказывают благотворного влияния на фибробласты, обработанные BSO, даже при наиболее высоких испытуемых концентрациях (1%). Ни одно из этих соединений не обладает автофлуоресценцией. Жизнеспособность фибробластов, не обработанных BSO, принимают за 100%, и жизнеспособность клеток, обработанных BSO и соединениями настоящего изобретения, рассчитывают относительно этой величины.

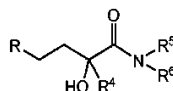
Соединения настоящего изобретения считают активными, если они обладают защитным эффектом против ASD при EC_{50} , меньшей 300 нМ. Соединение настоящего изобретения испытывают согласно вышеописанному протоколу и обладают активностью, равной 50 нМ.

Раскрытие всех публикаций, патентов, заявок на патент и опубликованных заявок на патент, на которые здесь ссылаются при помощи отождествляющего цитирования, таким образом включены сюда путем ссылки в полном объеме.

Хотя вышеприведённое изобретение описано до некоторой степени подробно благодаря иллюстрациям и примерам для ясности изложения, для специалистов в данной области очевидно, что некоторые небольшие изменения и модификации могут быть использованы на практике. Поэтому описание и примеры не следует рассматривать как ограничивающие область действия патента.

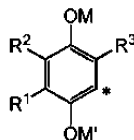
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



Формула I,

где R представляет собой



где * указывает на точку присоединения R к остальной молекуле;

R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляют собой метил;

R^5 и R^6 , каждый, представляют собой водород;

M и M' представляют собой водород,

или его соль, стереоизомер или смесь стереоизомеров.

2. Соединение по п.1, которое представляет собой гидрохинонную форму соединения, выбранного из группы, состоящей из

(R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида;

(S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

3. Соединение по п.1, которое представляет собой гидрохинонную форму соединения (R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида или его соль.

4. Соединение по п.2, которое представляет собой гидрохинонную форму соединения (R)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.

5. Соединение по п.1, которое представляет собой гидрохинонную форму соединения (S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида или его соль.

6. Соединение по п.2, которое представляет собой гидрохинонную форму соединения (S)-2-гидрокси-2-метил-4-(2,4,5-триметил-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диенил)бутанамида.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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